



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE
MESTRADO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE

WALESKA NAYANE COSTA SOARES

**EXTRATO PIROLENHOSO DE JUREMA PRETA E EUCALIPTO COMO
ANTISSÉPTICOS ALTERNATIVOS NO PÓS-DIPPING DE CABRAS LEITEIRAS**

MOSSORÓ

2020

WALESKA NAYANE COSTA SOARES

**EXTRATO PIROLENHOSO DE JUREMA PRETA E EUCALIPTO COMO
ANTISSÉPTICOS ALTERNATIVOS NO PÓS-DIPPING DE CABRAS LEITEIRAS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

Linha de Pesquisa: Tecnologias Sustentáveis e Recursos Naturais do Semi-Árido

Orientador: Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó

Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre Santos Pimenta

MOSSORÓ

2020

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S676e Soares, Waleska Nayane Costa.
Extrato pirolenhoso de Jurema preta e
Eucalipto como antissépticos alternativos no pós-
dipping de cabras leiteiras / Waleska Nayane
Costa Soares. - 2020.
81 f. : il.

Orientador: Francisco Marlon Carneiro Feijó.
Coorientador: Alexandre Santos Pimenta.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ambiente, Tecnologia e Sociedade, 2020.

1. Ácido pirolenhoso. 2. Planta nativa. 3.
Planta cultivada. 4. Antissepsia. 5.
Caprinocultura leiteira. I. Feijó, Francisco
Marlon Carneiro, orient. II. Pimenta, Alexandre
Santos, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

WALESKA NAYANE COSTA SOARES

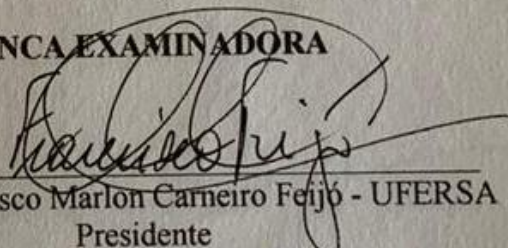
**EXTRATO PIROLENHOSO DE JUREMA PRETA E EUCALIPTO COMO
ANTISSÉPTICOS ALTERNATIVOS NO PÓS-DIPPING DE CABRAS LEITEIRAS**

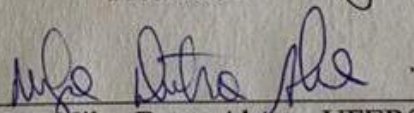
Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ambiente, Tecnologia e Sociedade do
Programa de Pós-Graduação em Ambiente,
Tecnologia e Sociedade da Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Mestre em
Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

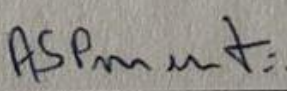
Linha de Pesquisa: Tecnologias Sustentáveis e
Recursos Naturais do Semi-Árido

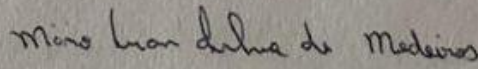
Defendida em: 25 / 09 / 2020.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Francisco Marlon Carneiro Feijó - UFERSA
Presidente


Prof.ª Dra. Nilza Dutra Alves - UFERSA
Membro Examinador


Prof. Dr. Alexandre Santos Pimenta - UFRN/EAJ
Membro Examinador e coorientador


Prof. Dr. Mário Luan Silva de Medeiros - UNINASSAU
Membro Examinador externo

A minha mãe e minha gata, vocês são a razão de sempre seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser a força invisível que me guiou durante toda essa trajetória. A minha mãe por ser a pessoa que me prende e que me ensinou e ensina a amar. A minha família, em especial, Hérica Souza, Iarly Souza, Priscila Campos e Gorete Soares.

À minha colega Jamile Holanda por me mostrar o que eu iria enfrentar, ao técnico Lúcio do Laboratório de Tecnologia da Madeira e o Prof. Dr. Alexandre Pimenta da Escola Agrícola de Jundiaí/Universidade Federal do Rio Grande do Norte (EAJ/UFRN) por sempre serem gentis e me ajudarem a adquirir conhecimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa, e aos professores e coordenação do Programa de Pós-graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade por me ajudarem na minha formação.

Aos membros da minha banca de qualificação Marlon Feijó, Gardênia Silvana, Ricardo Leite e Ana Carla Diógenes pelas correções construtivas do trabalho.

A todos os integrantes do Laboratório de Microbiologia Veterinária (LAMIV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), em especial a Prof^a. Dra. Nilza Dutra, Prof^a. Dra. Gardênia Silvana, o técnico Caio Sérgio vocês se tornaram minha família por dois anos, agradeço imensamente todos os momentos que passamos juntos.

A seu Lírío e sua mulher por cederem os animais do experimento e sempre estar dispostos a nos receber, muito obrigada!

A Prof^a. Dra. Jesane Alves por me ajudar durante esse processo e os integrantes do Programa de Educação Tutorial (PET) Produção animal, em especial a Gabriel Lopes e Jéssica Gomes.

A todas as amigas que fiz na casa seis da vila acadêmica feminina, em especial, Kelly Barbosa, Mahyla Taylane e Bruna Oliveira.

Aos meus melhores amigos Luan Medeiros e Emerson Medeiros que estavam comigo durante toda a minha trajetória me apoiando e incentivando, amo vocês.

E por fim, ao Prof. Dr. Marlon Feijó por andar ao meu lado nessa jornada me guiando e ensinando, espero que o tempo tenha sido feliz assim como foi para mim. Obrigada por todo o apoio, o tenho em grande em consideração.

Se quer plantar para poucos dias, plante flores.
Se quer plantar por muitos anos, plante uma
árvore. Se quer plantar para a eternidade,
plante ideias.

Provérbio oriental

RESUMO

O extrato pirolenhoso (EP) de plantas possui ampla utilização na agricultura como, adubo, contra patógenos e potencializador de produtos fitossanitários, possuindo ação contra bactérias, fungos e vírus. Assim, investigou-se o potencial antimicrobiano dos EP's de *Mimosa tenuiflora* e *Eucalyptus urograndis* como antisséptico nos tetos de cabras leiteiras. Foi realizado a extração dos EP's de *M. tenuiflora* e *E. urograndis* com posterior bidestilação. A técnica de disco-difusão foi realizada para a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* para ação antimicrobiana *in vitro*. Os principais resultados incluem susceptibilidade de todas as bactérias testadas com 20% dos EP's diluídos em água destilada, com ênfase em *S. aureus* que mostrou inibição na concentração de 15% em ambos extratos. As concentrações dos extratos definidas nos testes *in vitro* foram utilizadas para análise citotóxica em células (células epiteliais e fibroblastos) obtidas da superfície externa de tetos de cabra. O EP de *E. urograndis* diminuiu a atividade metabólicas das células, enquanto que EP de *M. tenuiflora* mostrou-se similar ao convencional iodo a 2%. No teste *in vivo* foram coletadas amostras da superfície dos tetos de cabras para análise de Contagem Padrão em Placas (CPP). Foi realizado delineamento inteiramente casualizado, ocorrendo em duas etapas, na primeira com o uso de EP de *M. tenuiflora* e na segunda com EP de *E. urograndis*, divididos em três grupos de 5 animais. O primeiro grupo com o antisséptico teste, o segundo controle positivo (Iodo 2%) e o terceiro controle negativo (água destilada estéril), aplicados durante 28 dias consecutivos com coletas a cada 7 dias, totalizando 4 coletas. Nos resultados obtidos ambos EP's mostraram diminuição da contagem microbiana, com destaque para EP de *M. tenuiflora* que apresentou menor número de colônias bacterianas do que EP de *E. urograndis*. Foram realizadas análises físico-químicas lactose, gordura, sólidos não gordurosos, proteína, ponto de congelamento, pH e condutividade elétrica do leite das cabras do experimento. Em relação as análises físico-químicas ambos EP's não interferiram nesses parâmetros. Portanto, conclui-se que o EP de *M. tenuiflora* a 20% pode ser usado como antisséptico no pós-dipping de cabras leiteiras, e que mais estudos toxicológicos precisam ser realizados para comprovar o uso seguro do EP de *E. urograndis*.

Palavras-chave: Ácido pirolenhoso. Planta nativa. Planta cultivada. Antissepsia. Caprinocultura leiteira.

ABSTRACT

The pyroligneous extract (EP) of plants is widely used in agriculture as a fertilizer, against pathogens and an enhancer of phytosanitary products, having action against bacteria, fungi and viruses. Thus, the antimicrobial potential of EP's of *Mimosa tenuiflora* and *Eucalyptus urograndis* was investigated as an antiseptic on the roofs of dairy goats. The extraction of the EP's of *M. tenuiflora* and *E. urograndis* was carried out with subsequent bidistillation. The disk-diffusion technique was performed for *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* for *in vitro* antimicrobial action. The main results include the susceptibility of all bacteria tested with 20% of the EP's diluted in distilled water, with an emphasis on *S. aureus* which showed inhibition in the concentration of 15% in both extracts. The concentrations of the extracts defined in the *in vitro* tests were used for cytotoxic analysis in cells (epithelial cells and fibroblasts) obtained from the external surface of goat ceilings. The EP of *E. urograndis* decreased the metabolic activity of cells, while EP of *M. tenuiflora* was similar to conventional 2% iodine. In the *in vivo* test, samples were collected from the surface of the roofs of goats for analysis of Standard Plate Count (CPP). A completely randomized design was performed, occurring in two stages, the first with the use of EP from *M. tenuiflora* and the second with EP *E. urograndis*, divided into three groups of 5 animals. The first group with the antiseptic test, the second positive control (2% iodine) and the third negative control (sterile distilled water), applied for 28 consecutive days with collections every 7 days, totaling 4 collections. In the results obtained, both EP's showed a decrease in the microbial count, with emphasis on the EP of *M. tenuiflora*, which presented a lower number of bacterial colonies than the EP of *E. urograndis*. Physicochemical analyzes were carried out lactose, fat, non-greasy solids, protein, freezing point, pH and electrical conductivity of the milk of the goats in the experiment. Regarding the physical-chemical analyzes, both EP's did not interfere in these parameters. Therefore, it is concluded that the EP of *M. tenuiflora* 20% can be used as an antiseptic in the post-dipping of dairy goats, and that more toxicological studies need to be carried out to prove the safe use of the EP of *E. urograndis*.

Keywords: Pyroligneous Acid. Native Plant. Cultivated Plant. Antiseepsy. Milk Caprinoculture.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Planta nativa *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir conhecida como Jurema preta. Imagens da A) copa, B) flores e C) sementes..... 33
- Figura 2 - Planta híbrida cultivada *Eucalyptus urograndis* conhecida como eucalipto. Imagens da A) folhas, B) área cultivada, C) mudas e D) madeira..... 34

CAPÍTULO 1

- Figura 1 - Morphological analysis of cells obtained from the caprine teat region exposed to the PA of *Mimosa tenuiflora*, PA of *Eucalyptus urograndis* and 2% iodine. Cells exposed to A) Negative control, B) 20% of the PA of *Mimosa tenuiflora*, C) 20% of the PA of *Eucalyptus urograndis*, and D) 2% iodine solution, 40x..... 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Principais antissépticos usados em animais	18
Tabela 2	–	Grupo de classes com potencial antimicrobiano em compostos vegetais.....	23
Tabela 3	–	Genes de virulência e genes que conferem resistência a antissépticos.....	43

CAPÍTULO 1

Tabela 1	–	Viability and metabolic activity of goat cells cultured in vitro after 10 min of incubation of the PA of Jurema preta (<i>M. tenuiflora</i>) and Eucalyptus (<i>E. urograndis</i>) at 20% and 2% iodine.....	77
Tabela 2	–	Diameter of the PA's inhibition halos of <i>M. tenuiflora</i> and <i>E. urograndis</i> in the growth of microorganisms	78
Tabela 3	-	Average Colony Forming Units (Log^{10} CFU/cm ²) of bacteria from the caprine mammary gland for the PA of <i>M. tenuiflora</i> , 2% iodine and sterile distilled water.....	78
Tabela 4	-	Average of Colony Forming Units (Log^{10} CFU/cm ²) of bacteria from the caprine mammary gland for the PA of <i>E. urograndis</i> , 2% iodine and sterile distilled water.....	79
Tabela 5	-	Average values of the physical-chemical parameters analyzed in relation to the PA of <i>M. tenuiflora</i> , 2% iodine and sterile distilled water from the obtained goat's milk.....	79
Tabela 6	-	Average values of the physical-chemical parameters analyzed in relation to the PA of <i>E. urograndis</i> , 2% iodine and sterile distilled water from the obtained goat's milk.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

pH	Potencial hidrogeniônico
PVP-I	Polivinilpirrolidona iodada
QAC's	Compostos de amônio quaternário
BAC	Cloreto de benzalcônio
CPC	Cloreto de cetilpiridínio
ATP	Trifosfato de adenosina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Dr.	Doutor
EP	Extrato pirolenhoso
GNC	Gases não condensáveis
GC	Gases condensáveis
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
GC	Cromatografia a gás
MS	Espectrometria de massas
sp.	Espécie
spp.	Espécies
DLS	Dejeto líquido de suíno
Ltda	Empresas do tipo sociedade limitada
HAP	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
XVIII	Século dezoito
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
BR	Brasil
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
CCS	Contagem de células somáticas
SCP	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva
GBS	Estreptococos de grupo B
DTA	Doenças transmitidas por alimentos
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênicas
EPEC	<i>Escherichia coli</i> enteropatogênicas
STEC ou VTEC	<i>Escherichia coli</i> shigatoxigênicas ou verotoxigênicas
UPEC	<i>Escherichia coli</i> uropatogênicas
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasivas

ESBL	β -lactamases de espectro estendido
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
PA	Pyroligneous acids
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
EAJ	Escola Agrícola de Jundiaí
Min	Minute
DMED	Dulbecco's Modified Eagle Medium
CN0	Negative control
JP20	Pyroligneous acid of <i>Mimosa tenuiflora</i>
E20	Pyroligneous acid of <i>Eucalyptus urograndis</i>
I2	Iodine solution at 2%
MTT	3- (4,5-dimethyl-2-thiazolyl) -2,5-diphenyl-2-yl-tetrazolic
CFU	Colony Former Unit
ATCC	American Type Culture Collection
TSA	Tryptone Soya Agar
PC	Positive control
CRD	Completely randomized design
NI	Normative Instruction
log	Logarithm
ANOVA	Análise de Variância
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
TA	Treatments average
RV	No reference value
WA	Weekly average

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
NaOCl	Hipoclorito de sódio
ClO ₂	Dióxido de cloro
I ₂	Iodo
Cl ₂	Cloro
HOCl	Ácido hipocloroso
NH ₄ ⁺	Amônio
°C	Celsius
OH	Hidroxila
mm	Milímetro
Cu	Cobre
Zn	Zinco
®	Marca registrada
\$	Cifrão
g	Grama
Kg	Kilograma
β	Beta
*	Asterisco
cm	Centímetro
±	Mais ou menos
mmHg	Milímetros de mercúrio
mm ³	Milímetro cúbico
nd	2º passagem
rd	3º passagem
ml	Mililitro
nm	Nanômetro
μL	Microlitro
cm ³	Centímetro cúbico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1	ANTISSÉPTICOS	18
2.1.1	Antissépticos convencionais usados no pós-dipping	20
2.1.2	Antissépticos alternativos fitoterápicos	22
2.2	EXTRATO PIROLENHOSO	27
2.2.1	Ação antimicrobiana	29
2.2.2	Utilização de extrato pirolenhoso	30
2.2.3	Toxicidade	31
2.3	SILVICULTURA	32
2.3.1	Jurema preta (<i>Mimosa tenuiflora</i> (Wild.) Poir)	32
2.3.2	<i>Eucalyptus urograndis</i>	33
2.4	CAPRINOCULTURA LEITEIRA	35
2.4.1	Mastite	37
2.4.2	Microorganismos causadores de mastite	39
2.4.2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	39
2.4.2.2	<i>Streptococcus sp.</i>	40
2.4.2.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
2.4.2.4	<i>Escherichia coli</i>	42
	REFERÊNCIAS	45
3	OBJETIVOS	59
3.1	OBJETIVO GERAL	59
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	59
4	CAPÍTULO 1 - PYROLIGNEOUS ACID FROM <i>MIMOSA TENUIFLORA</i> AND <i>EUCALYPTUS UROGRANDIS</i> AS AN ANTISEPTIC IN DAIRY GOATS	60
5	CONCLUSÃO	83
	ANEXOS	84

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país dotado de grande diversidade biológica e cultural o que o torna amplo em conhecimentos e tecnologias tradicionais (OLIVEIRA, 2017). Entre as várias regiões do país, o bioma Caatinga é um dos menos conhecidos cientificamente. No entanto, sua vegetação apresenta adaptações de milhões de anos, fazendo dela sobrevivente em condições climáticas peculiares (RICARDO et al., 2018). Das várias espécies de plantas características da caatinga, a Jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) é uma das mais conhecidas e utilizadas, suas folhas e frutos são usados na alimentação animal de pequenos ruminantes, como os caprinos, e ainda é possível se obter a madeira, lenha e carvão (LIMA, 2011).

Em contrapartida, o gênero *Eucalyptus* sp. é o mais plantado em todo país. Em 2016, esse gênero representou 72% da espécie cultivada, com 7,84 milhões de hectares. A sua representatividade é creditada principalmente pelo crescimento rápido, alta densidade e produtividade, com isso, adsorve dióxido de carbono da atmosfera melhor que outras plantas florestais (BRIANEZI et al., 2019). Seu uso inclui, construções de cercas, participação em sistemas agrosilvopastoris, extração de celulose para produção de papel, produção de bioprodutos, alimentação animal e carvão (VECHI; MAGALHÃES JÚNIOR, 2018).

Esse uso do carvão como combustível é devido às restrições ecológicas de combustíveis fósseis e a crescente demanda de consumo energético. Portanto, é uma matéria prima renovável e menos poluente quando comparada a fontes não renováveis (MEDEIROS NETO et al., 2012). Nesse sentido, o carvão obtido de ambas espécies florestais é produzido através do processo de pirólise, termo usado para a decomposição térmica da madeira em anaerobiose (CAMPOS, 2007). Sua queima resulta em apenas 30% de combustível, quando não aproveitada a massa restante é emitida para a atmosfera em forma de gases poluentes. Um desses produtos emitidos para a atmosfera é o extrato pirolenhoso (EP) o qual possui potencial econômico (SENA et al., 2014).

O EP então pode ser usado na composição de adubos orgânicos e compostagem, desinfetante de ambientes, esterilizante, aditivo alimentar de animais e alimentos para consumo humano (CAMPOS, 2007). No que diz respeito ao uso como antisséptico, é necessário que sua ação contra agentes patogênicos tenha características de amplo espectro de ação, ser atóxico, não irritar os tecidos dos animais, apresentar estabilidade na pele e o custo acessível (RAMALHO et al., 2012).

O uso de soluções antimicrobianas no pré e pós-dipping são práticas agropecuárias necessárias para assegurar um produto de qualidade, e na ausência pode ocorrer à

contaminação do leite e o aparecimento de patologias, como a mastite. Ademais, aproximadamente 90% do rebanho de caprinos no país encontra-se na região Nordeste, sendo uma cultura adequada para pequenos produtores o qual contribui com a renda seja pela venda do animal ou a comercialização de seus produtos como a carne, o leite e o couro (SILVA; GUIMARÃES; OLIVEIRA, 2012). Portanto, diante das informações fornecidas é válido investigar o potencial antimicrobiano de extratos obtidos de plantas nativas e cultivadas atreladas a práticas de pequenos produtores e produtores familiares de caprinos de uma região pertencente ao nordeste brasileiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ANTISSEPTICOS

A prevenção de enfermidades inicia-se pela higienização em geral (RIBAS; SANTOS; BOTELHO, 2020). Antes, a administração profilática de antimicrobianos empregados em diversos setores favoreceu o aparecimento de microrganismos resistentes, o que inviabilizou seu uso. Dessa forma, uma alternativa viável é o uso de antissépticos (MEDEIROS et al., 2018). O termo antisséptico é utilizado para substâncias biocidas em contato com tecidos vivos. O mesmo pode ser classificado como bacteriostáticos e bactericidas, quando inibe o crescimento microbiano sem causar sua destruição e quando causa a destruição, respectivamente (AVANCINI; BOTH, 2017).

Vários antissépticos são utilizados para antisepsia dos diversos tecidos vivos (Tabela 1), tais como álcool 70% (BARBOSÁ et al., 2018), hipoclorito de sódio (NaOCl), clorexidina (RIBEIRO; CAMARGO, 2019), ácido láctico (DREVES, 2017) e compostos de amônio quaternário (MUÑOZ, 2019). Os antissépticos que melhor atendem as exigências de aplicação em tecidos vivos e mais conhecidos são o iodo, a clorexidina e o álcool (URQUIZA et al., 2016).

As exigências gerais para aprovação de substâncias como antissépticos incluem um produto com amplo espectro de ação mesmo na presença de matéria orgânica, tempo mínimo de inativação dos microrganismos, capacidade de preservar a integridade do material, tolerância à variações de temperatura e de pH, possuir ação residual, odor agradável ou inodoro, facilidade de aquisição e preparo e baixo custo (URQUIZA et al., 2016).

Adicionalmente, as características de antissépticos usados na pecuária leiteira incluem: eficácia contra os principais patógenos presentes nas glândulas mamárias, fácil aplicação, manter ou promover boas condições de higiene (SARTORI; SANTOS; MARIN, 2012; VIEIRA et al., 2018) e a qualidade do produto (COUTINHO et al., 2012).

Tabela 1. Principais antissépticos usados em animais.

ANTISSEPTICOS	MECANISMOS DE AÇÃO	UTILIZAÇÃO	REFERÊNCIA
ÁLCOOL			
Álcool em gel	Desnaturação das	Antissepsia	PIMENTEL et al.,

	proteínas;		2020
Álcool 70%	Rompimento da membrana bacteriana.	Antissepsia cirúrgica em pequenos animais	TRAJANO et al., 2019
IODOFOROS			
Iodo	Penetração na parede celular levando	Pós-dipping	PEIXOTO, 2017; DREVES, 2017
Polivinilpirrolidona iodada (PVP-I)	extravasamento de conteúdo celular;	Antissepsia pré-cirúrgica em animais	MEDEIROS et al., 2018
Tintura de iodo a 10%	Oxidação dos grupos S-H dos aminoácidos (interfere na função das proteínas).	Antissepsia do coto umbilical de cordeiros	REIS; LEITE; GOMES, 2018
PRODUTOS CLORADOS			
Cloro 2,5%	Desnaturação das	Pós-dipping	PEIXOTO, 2017
Hipoclorito de sódio a 1%	proteínas da membrana celular;	Pré-dipping	MACIEL, 2018
	Alteração no transporte		
Dióxido de cloro (ClO ₂) a 0,1%	de nutrientes; Promove perda de componentes celulares.	Antisséptico oral de cães e gatos	GOMES, 2019
ÁCIDOS ORGÂNICOS			
Ácido láctico	Age na membrana celular bacteriana.	Pós-dipping	DREVES, 2017
CLOREXIDINA			
Digluconato de clorexidina 0,12%	Dissociação da membrana plasmática bacteriana (perda de 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., 2019
COMPOSTOS DE AMÔNIO QUATERNÁRIO (QAC's)			

Cloreto de benzalcônio (BAC)	Membrana celular – interação eletrostática	Pós-dipping	SILVA et al., 2019
Cloreto de cetilpiridínio (CPC)	com a membrana citoplasmática.	Antisséptico pré-operatório, composição de produtos de higiene	MUÑOZ, 2019

2.1.1 Antissépticos convencionais do pós-dipping

O pré e pós-dipping são a imersão do teto em solução sanitizante antes e após a ordenha, respectivamente. Os princípios ativos mais comuns dos antissépticos convencionais usados na higienização dos tetos dos animais são iodo, clorexidine, ácido sulfônico, lauricidina, cloro e compostos de amônio quaternário (SILVA et al., 2015; MORÃO et al., 2015; VIEIRA et al., 2018). Esses compostos podem estar diluídos em bases e emolientes para minimizar irritações e condicionar a pele do teto, os mais usuais são glicerina, lanolina, propilenoglicol, sorbitol, óleos vegetais, minerais e colágeno (SILVA et al., 2015).

Um antisséptico é considerado eficaz quando existe a comprovação de 70% de morte microbiana em comparação ao controle positivo (MORÃO et al., 2015). Essa eficiência pode sofrer influências das variáveis: limpeza prévia da superfície, carga orgânica presente, tipo e nível de contaminação microbiana, características dos microrganismos, concentração, tempo de exposição, presença de biofilmes, temperatura e pH (CAMPOS; VALENTE; AVANCINI, 2016; AVANCINI; BOTH, 2017). E ainda, para sanitizantes usados no pós-dipping o tempo de ação deve ser de 1 a 2 horas, tempo necessário para fechar o esfíncter do teto (SILVA et al., 2015; SÁ et al., 2018). Devido a esses quesitos um número limitado de antissépticos químicos podem ser usados nos tetos, e a resistência e sensibilidade antimicrobiana, dificulta ainda mais programas de prevenção e controle de mastite em rebanhos leiteiros, o que incentiva a busca continua por novos fármacos, principalmente fitoterápicos (ALVES et al., 2017).

O álcool utilizado como antisséptico é disponível em concentrações de 60 a 80% e são de ação bactericida imediata com ação efetiva em 15 segundos, podendo ser adicionado um emoliente, como a glicerina a 2% (Tabela 1). No entanto, existem limitações de uso como a capacidade de volatilização, ser inflamável, ação reduzida na presença de matéria orgânica e ressecamento do tecido principalmente quando não está associado a uma base emoliente (TRAJANO et al. 2019).

Para antissepsia são usados dois álcoois: etanol e isopropanol, entre os dois o isopropanol é mais efetivo, tem custo acessível, menos volátil e fácil fabricação (DANTAS, 2018). No entanto, devido as fragilidades de ambos, seu uso é indicado para higienização de mãos, coto umbilical e antissepsia da pele para punção venosa ou arterial (TRAJANO et al. 2019), não sendo usual no pré-dipping e pós-dipping em animais leiteiros.

O iodo (I_2) é um antisséptico efetivo com amplo espectro de ação sobre bactérias, fungos e vírus que pode ser usado isoladamente ou como constituinte de compostos orgânicos e inorgânicos. Ele pode estar disponível como tintura (solução hidroalcolica) ou iodóforo (combinação do iodo com molécula orgânica), um exemplo é o Polivinilpirrolidona iodada (PVP-I) (Tabela 1). É usado principalmente na antissepsia de pele e no tratamento de feridas, contudo cada grupo de patógenos requer concentrações diferentes, sendo que acima de 1% não é indicado em peles inflamadas, uma vez que causa ação irritante (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; COUTINHO et al., 2012).

Compostos a base de iodo possuem pouca reatividade com proteínas e quase nenhuma dependência do pH para agir, sendo uma boa opção como desinfetante e antisséptico (DREVES, 2017). Além disso, sua ação efetivada é entre 1-2 minutos com efeito residual de 2-4 horas (TRAJANO et al., 2019), como solução no pós-dipping, o iodo puro deve ser utilizado em baixas concentrações (0,5 %) para que não deixe resíduos no leite (COUTINHO et al., 2012).

O cloro (Cl_2), assim como o iodo, é um halogênio que pode ser usado isoladamente na forma gasosa ou em combinação com outras substâncias químicas. Sua ação antimicrobiana é causada pelo ácido hipocloroso ($HOCl$), sendo um forte agente oxidante, com ação no sistema enzimático celular (Tabela 1), é usado no pré-dipping e no pós-dipping por ser um germicida de amplo espectro de ação. Nesse sentido, o hipoclorito de sódio ($NaOCl$) configura-se como um dos compostos químicos de maior utilização em decorrência de sua ação rápida, aplicabilidade e sua dissolução na água, contudo princípios ativos que contém cloro têm pouca 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).

A clorexidina é uma biguanida que recebe o nome de Digluconato de clorexidina e pode ter diferentes concentrações que variam de acordo com sua utilização (Tabela 1). Sua ação afeta principalmente as membranas celulares das bactérias, sendo efetiva contra as Gram-positivas e a maioria das Gram-negativas com exceção da maioria das *Pseudomonas*. É empregada no tratamento de infecções superficiais de tetos de vacas apresentando efeito

antimicrobiano cumulativo e contínuo, persistindo na pele por no mínimo 6 horas, com ação residual em mais de 24 horas (COUTINHO et al., 2012; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). É uma molécula simétrica que consiste em quatro anéis clorofenílicos, e dois grupos biguanidas conectados por uma ponte de hexametileno, sendo uma base forte dicatiônica com pH superior a 3,5 (RIBAS; SANTOS; BOTELHO, 2020).

O amplo espectro de ação, a capacidade de não ser inativada por pequenas quantidades de matéria orgânica (PEIXOTO, 2017), não apresentar alterações teratogênicas e possuir baixa atividade tóxica ao sistema (RIBAS; SANTOS; BOTELHO, 2020) a torna um antisséptico adequado para programas de controle de mastites caprinas (SILVA et al., 2015).

Os compostos quaternários de amônio (quats) são detergentes catiônicos derivados de mudanças do íon amônio de valência quatro (NH_4^+), sua ação está relacionada à parte positivamente carregada da molécula por provável alteração nas membranas plasmáticas, modificando a permeabilidade celular, sendo bactericidas fortes contra bactérias Gram-positivas e menos ativos contra bactérias Gram-negativas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). No entanto, estudos realizados com compostos de amônio quaternários demonstraram resistência das bactérias *Staphylococcus* spp. (MORÃO et al., 2015). Exemplos de compostos de amônio quaternário usados como antissépticos são o cloreto de benzalcônio (BAC) e cloreto de cetilpiridínio (CPC) (MUÑOZ, 2019).

Logo, o uso de antissépticos no pós-dipping visa inativar agentes microbianos encontrados nos diversos ambientes envolvendo a pecuária leiteira. Nesse intuito, os antissépticos mais eficazes usados no pós-dipping são clorexidine e iodo para *S. aureus*, para *Staphylococcus* Coagulase Positiva; o iodo, ácido láctico, clorexidine e cloro e para *Staphylococcus* Coagulase Negativa clorexidine e cloro (RAMALHO et al., 2012; ARCANJO et al., 2017). Entretanto, o iodo e a clorexidine são ineficazes na inibição de biofilmes consolidados de *Staphylococcus* spp. (PEIXOTO et al., 2015).

2.1.2 Antissépticos alternativos como fitoterápicos

O uso de plantas para tratamento de enfermidades é uma prática antiga que contribui para pesquisas com prospecção biotecnológica (HORVAT; MIYASAKA, 2019). Os efeitos terapêuticos das plantas advêm dos princípios ativos que podem ser: ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, taninos, cumarinas, flavonoides, antraquinonas, óleos essenciais e saponinas, que podem estar contidos em extratos, frações proteicas ou biomoléculas isoladas (BEZERRA, et al., 2018).

Os fitoterápicos são compostos produzidos pelos vegetais com potencial antimicrobiano, são metabólitos secundários, divididos em três classes principais: os terpenóides, os alcaloides e os compostos fenólicos (Tabela 2) (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017). Exemplos de fitoterápicos usados em estudos são o óleo essencial de *Lippia origanoides* (MORÃO et al., 2018), o extrato etanólico de folha da *Hymenaea martiana* (VIEIRA et al., 2018), decóctos de *Spondias purpúrea* L., *Azadirachta indica* A. (MEDEIROS, 2013), decocto de *Spondias mombin* L. (LEONÊZ et al., 2018) e extrato alcoólico de *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L. (HORVAT; MIYASAKA, 2019).

Tabela 2. Grupo de classes como potencial antimicrobiano em compostos vegetais.

COMPOSTO QUÍMICO	MECANISMO DE AÇÃO	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	REFERÊNCIA
TERPENÓIDES			
Limoneno	Perda da integridade da membrana plasmática microbiana	<i>Staphylococcus aureus</i>	GALLEGOS-FLORES et al., 2019
Carvona	Acúmulo do composto na membrana do microrganismo ocasionando perda de energia pelas células	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecium</i>	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	<i>E. coli</i> <i>Salmonella spp</i> <i>S. aureus</i>	GALLEGOS-FLORES et al., 2019
Mentol	Acúmulo do composto	<i>E. coli</i>	QUEIROZ; BIERRA;

	na membrana do microrganismo ocasionando perda de energia pelas células	<i>E. faecium</i>	MACHADO, 2018
Eugenol	Influencia na síntese, inativação ou agregação de proteínas	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	NOGUEIRA, 2019
Timol	Promove desintegração da membrana externa de bactérias; Aumenta a permeabilidade e a despolarização da membrana citoplasmática	<i>Aeromonas Hydrophila</i>	MAJOLO et al., 2020
Trans-cinamaldeído	Causa extravasamento de conteúdo citoplasmático	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	NOGUEIRA, 2019
Citronelal	Não esclarecido	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>	ESTEVES; ECKER, 2020
ALCALÓIDES			
Berberina	Atividade inibitória de enzimas; Dificulta a aderência as células hospedeiras	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp.	BARBIZAN, 2019
Piperina	Não esclarecido	<i>Candida albicans</i> <i>Streptococcus mutans</i>	ALBUQUERQUE, 2020
COMPOSTOS FENÓLICOS			
Flavonoides	Oxidação de elementos fundamentais da parede celular, principalmente os peptideoglicanos; Inibição de enzimas;	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>Crostridium perfringens</i> <i>Pseudomonas</i>	ARAÚJO et al., 2015; SPRENGER et al., 2017; VERRUCK; PRUDENCIO; SILVEIRA, 2018

	Inibição de ácidos nucleicos	<i>aeruginosa.</i>	
Guaiacol	Alteração da membrana citoplasmática do microrganismo, perturbando a força motriz de prótons, fluxo de elétrons, transporte ativo e coagulação do conteúdo das células	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus mitis</i> <i>S. mutans</i> <i>Streptococcus sanguis</i>	VIERA, 2015
Cumarinas	Inibição da sinalização <i>quorum sensing</i> ; Impede o processo de replicação do DNA na célula bacteriana	<i>P. aeruginosa</i>	DIAS, 2015; URQUHART et al., 2018
Taninos	Inibição de enzimas extracelulares; Competição por íons metálicos essenciais ao metabolismo microbiano. Desestabilização da membrana citoplasmática	<i>C. albicans</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	AMANCIO et al., 2015; ARAÚJO et al., 2015; SPRENGER et al., 2017

Os terpenóides são um grupo extenso de moléculas orgânicas formadas por unidades de isopreno 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 terpenoides derivam do isopreno, a partir da rota biossintética do ácido mevalônico (NOGUEIRA, 2019). Quimicamente, os terpenos são caracterizados como hidrocarbonetos insaturados, contudo, se na sua estrutura molecular o mesmo contiver um oxigênio será denominado de terpenoide, apresentando diferentes funções químicas como ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos (FELIPE; BICAS, 2017).

Alguns compostos como timol e cavacrol possuem atividade microbiana comprovada e sua ação deriva principalmente de alterações na membrana microbiana ou em seus constituintes (Tabela 2). Eles estão presentes em extratos e óleos essenciais de várias plantas. Exemplos disso é o terpenoide carvona presente 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 atuantes no sistema nervoso, como venenos ou alucinógenos, alguns conhecidos são a morfina e a cocaína (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017). Basicamente são sintetizados a partir de um ou poucos aminoácidos comuns, contudo sua constituição é variável, uma vez que dependem dos agrupamentos adjacentes (SOUZA, 2014).

Apesar dos poucos estudos na literatura sobre alcaloides atuantes como antimicrobianos quando comparados com os demais grupos, esse grupo tem representantes (Tabela 2) com potencial de utilização em associação com outros componentes formando micropartículas, é o caso da berberina (BARBIZAN, 2019).

Os compostos fenólicos contêm um grupo hidroxila ligado a um anel aromático. 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 possuem propriedades biológicas e farmacológicas (BORGES et al., 2017). Exemplos disso são as cumarinas e o guaiacol, que possui propriedades antimicrobianas comprovadas (Tabela 2). Seus efeitos incluem a inibição do *quórum sensing* e a alteração da membrana citoplasmática do microrganismo, respectivamente (VIERA, 2015; URQUHART et al., 2018).

Além disso, vários compostos podem agir em sinergismo, potencializando o efeito antimicrobiano. Isso ocorre quando os compostos são extraídos das diversas partes da planta e

de diferentes formas, o que pode inclusive aumentar a concentração dos componentes químicos nas frações obtidas (MAJOLO et al., 2020).

2.2 EXTRATO PIROLENHOSO (EP)

As primeiras pesquisas com EP foram divulgadas no Japão em 1874, e envolviam principalmente técnicas de carbonização, somente após a segunda guerra mundial, em 1944, que seu uso foi voltado para lavouras. O pioneiro nesse tema foi o Tatsujiro Fukuda, que em 1945 publicou o livro “Fabricação e Utilização do Extrato Pirolenhoso”, sobre o uso na cultura do arroz, utilizado no processo de compostagem, esterilização e contra pragas (TORRES et al., 2014). No Brasil sua utilização é recente, o pesquisador Dr. Shiro Miyasaka foi o responsável pelo incentivo e divulgação desses conhecimentos (CAMPOS, 2007). Já no Rio Grande do Norte, as pesquisas sobre EP com relação a composição e utilização, como a pesquisa “Chemical Composition of Pyroligneous Acid Obtained from *Eucalyptus* GG100 Clone” são desenvolvidas pelo professor Dr. Alexandre Pimenta.

O termo pirolenhoso vem de “pirólise”, processo que utiliza biomassa energética (ALMEIDA, 2019). Para a produção do EP a madeira precisa passar por um processo de combustão. Esse processo denomina-se pirólise, termo para decomposição térmica de materiais contendo carbono na ausência de oxigênio, neste processo são obtidos o carvão vegetal e gases de efeito estufa com impacto ambiental negativo. Esse impacto pode ser diminuído se o forno for adaptado para coletar uma fração condensável, também conhecida como EP, a parte restante é denominada de gases não condensáveis (GNC). Portanto, o EP é o líquido obtido através da condensação da fumaça na produção do carvão vegetal (CAMPOS, 2007; TRINDADE et al. 2015; PORTO; CAMPOS; GARCIA, 2018).

Esta não é a única denominação para esse subproduto que também é conhecido como licor pirolenhoso, ácido pirolenhoso, vinagre de madeira, fumaça líquida ou bioóleo, alcatrão pirolenhoso, óleo de pirólise, óleo biológico, óleo de biocombustível, madeira líquida, óleo de madeira e destilados de madeira, sendo ácido pirolenhoso o termo usado no meio científico e EP o mais conhecido (CAMPOS, 2007; PORTO; CAMPOS; GARCIA, 2018).

Características como escolha da espécie de planta, densidade da madeira, resistência mecânica, umidade, teor de carbono fixo, teores de cinzas e matérias voláteis, além da temperatura para carbonização influenciam diretamente na qualidade do carvão vegetal e na composição química e física do EP (ARRUDA; ANDRADE; DIAS JÚNIOR, 2017). Para ser obtido o EP é necessário um sistema de recuperação de gases condensáveis (GC), no qual

pode ser utilizado um condensador resfriado à água acoplado a um recipiente de coleta (CANAL et al., 2016).

A produção do EP começa a partir de 200°C, tendo máxima produção em 300°C até 350°C, nessa temperatura ocorre à quebra das ligações OH da celulose e hemicelulose e de alguns grupos metoxila de componentes da lignina, com isso promove-se uma constituição de mistura de hidrocarbonetos e compostos oxigenados, acima desses valores de temperatura observa-se apenas produção de GNC (CANAL et al., 2016). Para a identificação desses componentes químicos os métodos mais comumente utilizados são Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (NURHAYATI; ROLIADI; BERMAWIE, 2005) e Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (CHATTERJEE, et al., 2014).

A celulose é um componente da parede celular e confere resistência mecânica e química, a hemicelulose é copolímero de açúcares presente na parede celular, e a lignina é polímero de compostos aromáticos com função de proteção (VIEIRA, 2019). Por conseguinte, o EP tem uma composição diversificada, com aproximadamente 80-90% de umidade e 10-20% de componentes orgânicos (NURHAYATI; ROLIADI; BERMAWIE, 2005). O EP tem um cheiro típico de fumaça e colorações de amarelo a marrom-avermelhada de acordo com a espécie florestal utilizada (PORTO; CAMPOS; GARCIA, 2018).

No tocante a essas substâncias orgânicas, na literatura são encontradas mais de 200, algumas descritas são o ácido acético, ácido fórmico, ácido propiônico, metanol, maltol, éter, álcool metílico, álcoois, acetaldeídos, acetonas, cetonas, fenóis, guaiacol, derivados de furano, e pirano, ésteres, cresol, derivados de carboidratos e compostos nitrogenados (GUIRALDO et al., 2006; SCHNTIZER et al., 2015; CHIAMENTI et al. 2016; SILVA et al., 2017; PORTO; CAMPOS; GARCIA, 2018). Dessas, sabe-se que o grupo de fenóis estão presentes em quantidade no EP de diferentes espécies florestais utilizadas, sendo um dos mais importante como agente antimicrobiano (PIMENTA et al., 2018). Ademais, várias outras substâncias tem potencial antimicrobiano como o ácido acético (SOUZA et al., 2018) e furfural (CHEMANE, 2018).

Portanto, existem estudos sobre a composição diferenciada dos EP's. Medeiros et al. (2019) analisaram a composição química de EP de Eucalipto (*Eucalytus urograndis*) e Jurema preta (*M. tenuiflora*) de acordo com a taxa de aquecimento no processo de carbonização. Os achados incluem maiores taxas de aquecimento relacionadas com maiores concentrações de furanos e piranos, e menores de compostos fenólicos. Ademais, a produção de furanos pode estar relacionado a degradação térmica de celulose e hemicelulose, enquanto que os compostos fenólicos podem estar relacionados a degradação da lignina.

2.2.1 Ação antimicrobiana

Os primeiros estudos envolvendo sua atividade antifúngica e antibacteriano eram oriundos do seu uso agrícola, ou em associação com herbicidas nas lavouras (PIMENTA et al., 2018). A efetividade do EP na indústria de alimentos contra os agentes patogênicos *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella muenster*, *Salmonella seftenburg*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus niger*. (SOUZA et al., 2018).

Os compostos guaiacol, fenol, cresóis e furfural, que representam aproximadamente 60% da composição do EP são os prováveis responsáveis pela ação antibacteriana e antifúngica do EP, com destaque para o furfural que atua como fungicida e os compostos fenólicos que possuem propriedades conservantes, no entanto sua efetividade está relacionada a combinação de vários compostos (MEDEIROS et al., 2019). Dessa forma, a ação dos ácidos orgânicos presentes no EP está na acidificação do citoplasma do microrganismo alterando seu metabolismo ao passo que as membranas plasmáticas são alteradas pelos compostos fenólicos (VIEIRA 2019).

Vieira (2019) ao testar EP obtido de endocarpo de *Coco nucifera* Lin, *Elaeis guineenses* Jacq., *Acromonia aculeata*, *Syagrus coronata* (Mart.), *Eucalyptus* sp. e sementes de *Euterpe oleracea* contra os fungos *Candida albicans* e *Trichosporon* através da técnica de disco difusão observou halos de diâmetro que variavam de 10 mm até 20 mm, o que mostra a atividade antifúngica do extrato. E ainda, pela análise dos compostos presente nos extratos, notou-se que os extratos pirolenhosos de *Elaeis guineenses* Jacq., *Acromonia aculeata* e *Eucalyptus* sp. por possuírem maiores porcentagens de compostos fenólicos apresentaram halos mais expressivos de inibição. Jankowsky et al. (2018) comprovaram a efetividade da fração metanólica do EP de *Dendrocalamus asper* contra bactérias Gram-positiva e Gram-negativa, o que também está associada aos compostos fenólicos.

O que corrobora com o estudo de Chiamenti et al. (2016), no qual sugere que os ácidos orgânicos como o ácido acético são os responsáveis por suas propriedades antimicrobianas, justificados por efeitos de redução do pH a danos na estrutura do DNA das células. Além disso, estudos mostram que o fenol é um componente germicida com atividade bacteriostática e que o ácido acético potencializa a sua atividade (SOUZA et al., 2018). Portanto, a sua

atuação contra microrganismos é derivada da ação em conjunto desses componentes (PIMENTA et al., 2018).

2.2.2 Utilização do EP

Além da sua atuação contra microrganismos, o EP atua como conservante em produtos cosméticos, ativador fisiológico de plantas, no controle de ervas daninhas, inseticida orgânico, fungicida, repelentes de pequenos animais, fertilizante orgânico, regulador de pH de soluções, potencializador da eficiência de produtos fitossanitários, desinfecção de ambientes (NURHAYATI; ROLIADI; BERMAWIE, 2005; GUIRALDO et al., 2006; CAMPOS, 2007; TRINDADE et al., 2015; CHIAMENTI, 2016; SANTOS, et al. 2017; SILVA et al., 2017; PORTO; CAMPOS; GARCIA, 2018). Além desse uso, na alimentação animal (DIÓGENES, 2017), na defumação de bacon (SOLETTI, 2018) e como antiparasitário (LOPES, et al., 2020).

Como visto anteriormente, várias são as funções que o EP pode desempenhar, como exemplo, no Japão, um dos seus vários usos é como medicamento para tratar doenças de pele (sarna, eczema e dermatite atópica) (VIEIRA, 2019).

O EP diluído em água e aplicado ao solo melhora as propriedades físicas, químicas e biológicas, além de favorecer a absorção de nutrientes do solo pelo sistema radicular das plantas e aumentar os microrganismos benéficos (WANDERLEY; FARIA; VENTURA, 2012). Esses estudos com EP foram desenvolvidos visando principalmente a diminuição do uso de defensivos agrícolas contra pragas ocasionadas por insetos que acometem as lavouras (BOGORNİ et al., 2008).

Bogorni et al. (2008) avaliaram o potencial inseticida de EP de *Eucalyptus grandis*, *Melia azedarach* e *Pinus caribaea* no *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), e embora não foi encontrado o efeito inseticida nas concentrações testadas em laboratório, ao que parece, a campo, o EP induz a resistência da planta a fitopatógenos, ativando substâncias do metabolismo secundário.

Com relação ao seu uso com animais, pode ser aplicado nas fezes dos animais para diminuir odores fortes (MOREIRA et al. 2019). Schmitz et al., (2017) verificaram o efeito de lixiviação de Cu e Zn no solo com o uso de EP de acácia negra (*Acácia mearnsii* De Wild), e o extrato mais o dejetos líquido de suíno (DLS) no solo. Percebeu-se com esse experimento que o ácido pirolenhoso diluído em água induz o movimento descendente dos nutrientes

estudados através do solo. Apesar disso, o EP diluído em dejetos de suínos inibiu coliformes totais e levou a uma diminuição da lixiviação dos metais Cu e Zn.

O EP de eucalipto sp. foi utilizado também na alimentação de frangos de corte (frangos Cobb 500) não sexados por Chemane (2018) em diferentes concentrações (0,5 a 2,5%). E obteve-se como achados a melhor conversão alimentar, aumento e altura de vilosidades de duodeno e íleos aos 42 dias de idade. Também foi observado a melhora do rendimento de carcaças no nível de 1,9% do extrato na dieta.

Moreira et al. (2019) estudaram o uso de EP comercial (Agro Pirolenhoso®, Doogneem Ltda) como fertilizante em viveiros de *Penaeus vannamei*. Nota-se que nos sistemas de criação de camarão é comum a aplicação de fertilizantes para desenvolvimento do fitoplâncton. Normalmente, utilizam-se esterco animal, contudo a dose inadequada pode ocasionar problemas de sanidade oriundo do desequilíbrio microbiano, principalmente de espécies bacterianas do grupo coliformes. E apesar das poucas evidências do seu emprego como melhorador de desempenho, nesse estudo os tratamentos com EP apresentaram uma melhora na qualidade da água.

2.2.3 Toxicidade

Estudos escassos estão relacionados a toxicidade, ecotoxicidade e genotoxicidade de EP. Assim, alguns estudos podem ser relacionados como: o EP de palha de arroz e da serragem da biomassa do carvalho em células Jurkat T, HepG2 (CHATTERJEE et al., 2014), EP de eucalipto em *Daphnia magna* (crustáceo de água doce), linhagem celular de peixes RTG2 (LIMA et al., 2019), e *Eisenia andrei* (minhoca) (RIBEIRO, 2016). Foi evidenciado que não há efeito genotóxico do EP bruto, apesar dos compostos fenólicos presentes, provavelmente devido as interações antagonistas com outros componentes do extrato (PIMENTA et al., 2000) demonstrando a capacidade para o desenvolvimento com pesquisas em humanos e animais.

Apesar disso, o EP não é aceito com facilidade pela população, uma vez que a mesma o considera carcinogênico. Isso ocorre pela população confundir o alcatrão de carvão, que é extremamente tóxico e cancerígeno com o alcatrão de madeira, no qual o EP pode conter traços. Além disso, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) de caráter carcinogênico e mutagênico são fortemente adsorvidos na fração breu (fração mais densa do extrato assim que obtido) e não são biodisponíveis (PIMENTA et al., 2018), dessa forma, não participando da porção bidestilada.

Portanto, sua aplicabilidade em várias áreas de pesquisa é comprovada, mas ainda são poucos os estudos sobre extratos pirolenhosos com relação à compreensão dos seus mecanismos de atuação (SANTOS et al., 2017). E com relação a toxicidade em espécies nativas como a *M. tenuiflora* ainda não foram encontradas referências.

2.3 SILVICULTURA

O Brasil possui grande extensão territorial associado a disponibilidade de terras, condições edafoclimáticas, mão-de-obra e desenvolvimento tecnológico para contribuir com o desenvolvimento da silvicultura em curto espaço de tempo. Os principais subprodutos obtidos da madeira são: licor negro, carvão vegetal, briquetes, pellets, metanol, óleos essenciais e ácido pirolenhoso (TORRES et al., 2014). A madeira obtida para estes fins pode ser oriunda de cultivada nativa (*M. tenuiflora*) e madeira de reflorestamento (*E. urograndis*) (SILVA; ATAÍDE, 2019).

2.3.1 Jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir)

Dos biomas brasileiros a caatinga é o único exclusivo do país. Abrangendo 10 Estados, entre eles o Rio Grande do Norte, representa aproximadamente 54 % da região Nordeste e 11 % do território brasileiro. Seu nome tem origem Tupi-Guarani que significa "mata branca" referente à sua paisagem esbranquiçada. A causa dessa degradação tem origem no desmatamento acelerado para o consumo da lenha nativa com explorações ilegais e insustentáveis para fins domésticos e industriais, no pastoreio, na transformação em pastagens e agricultura. Seu desflorestamento já chega a 46% da área do bioma (MEDEIRO NETO et al., 2012; MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017).

A característica da flora do semiárido é de uma vegetação de pequeno porte, arbóreo-arbustiva, como consequência, poucas são as plantas utilizadas para fins madeireiros, logo seu emprego está concentrado na produção de carvão vegetal, lenha e construções de cercas na propriedade (LIMA, 2011; ROCHA et al., 2015). Uma das plantas nativas com maior diversidade de utilização é a *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Figura 1) conhecida popularmente como jurema preta, devido a esse uso amplo é considerada como uma planta de vulnerabilidade, necessitando de estratégias locais para o seu uso racional e de forma sustentável (LUCENA et al., 2017).

M. tenuiflora (Willd.) Poir é uma espécie arbustiva pertencente à família Mimosaceae, o qual possui resistência à seca, grande capacidade de rebrota no ano todo, produz lenha e carvão de excelente qualidade (ROCHA et al., 2015). Além de ser uma das espécies nativas com potencial medicinal usado para tratar diversas enfermidades, sendo o único recurso disponível de moradores de comunidades rurais (MESQUITA; PINTO; MOREIRA, 2017).

Como planta medicinal existem indicações em casos de ferimentos, odontalgia, lombalgia, diabetes e inflamação. Sendo que seu uso faz parte da cultura local, utilizada para construções rurais e domésticas, atender a demanda energética (combustível), tecnologia, forragem, e como madeira na fabricação de moveis (RIBEIRO, et al., 2014; CORDEIRO; FÉLIX, 2014; ROCHA et al., 2015; RIBEIRO; MELO; BARROS, 2016; LUCENA et al., 2017).

Figura 1. Planta nativa *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir conhecida como Jurema preta. Imagens da A) copa, B) flores e C) sementes.



Fonte: autoria própria.



Fonte: <https://images.app.goo.gl/>



Fonte: <https://images.app.goo.gl/b1X9ewnQLLYcFTj9>

2.3.2 *Eucalyptus urograndis*

A crescente demanda global por energia vem colocando pressão sobre o meio ambiente comprometendo recursos naturais, causando desequilíbrio ambiental, além de serem

poucas as alternativas sustentáveis utilizando recursos renováveis. Diante disso, são necessários a seleção de espécies e clones florestais para produção de energia baseados na produção de massa, necessidade de água, impacto ambiental e o desenvolvimento social e econômico em áreas rurais (LOAIZA et al., 2020).

O Eucalipto tem origem na Austrália. Seus primeiros plantios foram na Europa, Ásia e África no início do século XVIII, chegando ao Brasil um século mais tarde (VIEIRA, 2019). É o gênero mais cultivado em todo mundo, no Brasil tem área de cultivo de 7,4 milhões de hectares de plantação. Essa expressividade é devido a alta produtividade, ciclo de crescimento reduzido e alta flexibilidade para as condições edafoclimáticas (BARROS; REZENDE; CAMPOS, 2019).

Eucalipto é uma espécie arbórea com folhas e casca perfumadas (PAULA; ALVES, 2007). Os seus produtos podem ter vários usos como obtenção de lenha, carvão vegetal e produção de celulose (PAIVA et al., 2011). Em estudos etnofarmacológicos houve indicações terapêuticas para pirexia, esquinência, asma, gripe, rinorreia, circulação sanguínea, disposição física e mental (*Eucalyptus globulus* Labill.), e dores estomacais (*Eucalyptus* sp.) (CARNEIRO, et al., 2014; RIBEIRO et al., 2014; PEREIRA JÚNIOR, et al., 2014).

Devido a seus diversos usos, foram desenvolvidos híbridos como *Eucalyptus urograndis* (híbrido do cruzamento entre *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis*) (Figura 2) com o objetivo de adaptação as diferentes condições climáticas e resistência a doenças. Esse híbrido tem se mostrado uma alternativa na silvicultura, o que pode ser demonstrado pelos estudos desenvolvidos como óleo essencial com ação antimicrobiana (ESTEVES; ECKER, 2020), na extração de hemicelulose (LOAIZA, et al., 2020), na produção de etanol (MARCONDES, 2019) e em sistemas silvopastoris (RIBASKI, 2018).

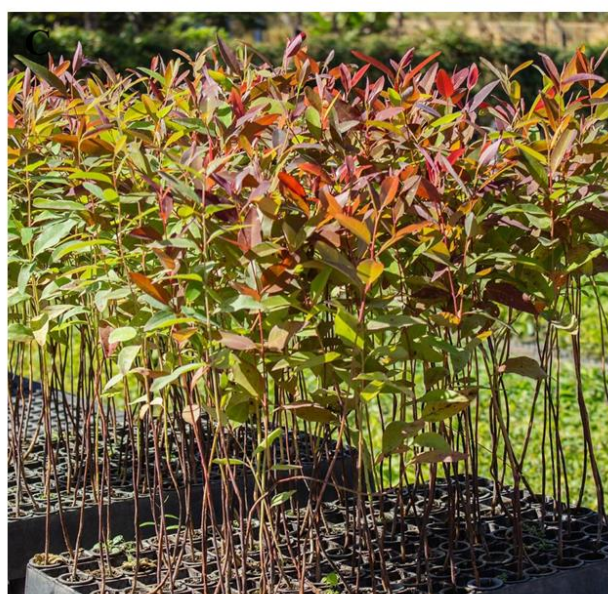
Figura 2. Planta híbrida cultivada *Eucalyptus urograndis* conhecida como eucalipto. Imagens da A) folhas, B) área cultivada, C) mudas e D) madeira.



Fonte: <https://images.app.goo.gl/sAsBfNyzPzHMdh7M6>



Fonte: <https://images.app.goo.gl/YYoutRA6rdGSVdBQ9>



Fonte: <https://images.app.goo.gl/d9KY2GqQtDRsJWot8>



Fonte: <https://images.app.goo.gl/1j6yrXAR6LfjF3Dn6>

2.4 CAPRINOCULTURA LEITEIRA

No mais recente Censo Agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) divulgado, o Brasil contabilizou aproximadamente 8,25 milhões de caprinos em 2017 representando um aumento de 16,11% quando comparado em 2006 (EMBRAPA, 2018). Desses, aproximadamente 7,6 milhões estão no nordeste brasileiro que concentra 90% do efetivo do rebanho nacional. No Rio Grande do Norte, entre as regiões do estado sobressai o Oeste potiguar com mais de 200 mil cabeças, Mossoró, um dos municípios que compõem essa região, contém mais de 18 mil cabeças (IBGE, 2017). Não obstante, o preço médio de venda sofreu um aumento nominal de 14% ano, saindo em 2006 de R\$ 63,64 para R\$ 153,06 em 2017 (EMBRAPA, 2018).

Esse quantitativo expressivo é devido principalmente à alta capacidade de adaptação desses pequenos ruminantes às condições climáticas do semiárido e aos diversos tipos de manejos, além da exploração da caprinocultura leiteira se mostrar ajustada a pequenas propriedades, auxiliando na sustentação do semiárido. Ademais, essa representatividade no Nordeste justifica o investimento em melhorias na exploração desse segmento econômico (CARNEIRO et al., 2016).

Apesar desse aumento no rebanho efetivo do país houve uma retração de 30% no segmento de caprinocultura leiteira com diminuição de 13% nos estabelecimentos que produzem leite de cabra. Em 2006, se tinha 150 mil cabras ordenhadas, em 2017, são 100 mil cabeças ordenhadas. Em contrapartida, o preço do leite de cabra teve uma taxa de crescimento de 6,94% ao ano, passando em 2006 de R\$ 1,22 para R\$ 2,15 em 2017 (EMBRAPA, 2018).

Essa redução na produção foi principalmente na região Nordeste, com a Bahia sendo a mais afetada, considerada uma das principais bacias leiteiras do país. Contudo, na região Sudeste o Estado de Minas Gerais, terceiro maior produtor de leite do país, apresentou um crescimento de 35% (EMBRAPA, 2018). Vale salientar que a região sudeste, a qual representa menos de 10% do efetivo de caprinos no país, destaca-se pela representatividade no segmento caprino leiteiro devido principalmente à organização dessa cadeia. As principais raças leiteiras utilizadas para obtenção do leite são a Saanen, Alpina, Toggenburg ou mestiças (ALMEIDA et al., 2013).

Um bom sistema de produção é eficiente quando se adota um modelo com avanços tecnológicos, menores custos de produção, uso de animais mais adaptados localmente e com aberturas de espaços no mercado (CARNEIRO et al., 2016). O leite de cabra é um importante alimento para indivíduos sensíveis ou alérgicos ao leite de vaca (ALMEIDA et al., 2013). Esse produto tem como características menores glóbulos de gordura, menor concentração de caseína e ausência de substância aglutinina o que proporciona melhor digestibilidade e minimiza a probabilidade de problemas alérgicos em humanos (BARROS et al., 2019). Além da sua utilização para fabricação de derivados como o queijo.

A composição química desse alimento varia de acordo com a raça, período de lactação, clima, estação do ano, alimentação, idade do animal e da produção (ALMEIDA et al., 2013). Atrelado a essa variação na composição química, a qualidade do leite de cabra sofre grande influência de fatores na obtenção, armazenamento e transporte, fatores zootécnicos e sanitários. Em relação aos aspectos sanitários pode-se citar a sanidade animal e a saúde da glândula mamária (BARROS et al., 2018).

Essa qualidade é alcançada através da adoção de medidas higiênicas em Programa de Boas Práticas de Ordenha. Entre essas práticas de ordenha estão adequado funcionamento do equipamento de ordenha, boas práticas de ordenha (uso de pré-dipping e pós-dipping), tratamento imediato de casos de mastite clínica, tratamento de animais com mastite subclínica na secagem (uso de antimicrobianos), segregação e descarte de animais com mastite crônica, linha de ordenha e fornecimento de alimentação aos animais após a ordenha (para que o esfíncter do teto seja fechado) (VESCO et al., 2017).

Dessa forma, a utilização do pré-dipping e pós-dipping na higiene do teto não é apenas para reduzir os riscos de infecção e de mastite, mas também para melhorar a qualidade do leite (VIEIRA et al., 2018). Assim, o pré-dipping e o pós-dipping representam estratégias eficazes no controle da mastite contagiosa e ambiental (ALVES et al., 2017). Logo, o uso de antissépticos é em primeira instância para redução da população antimicrobiana com o intuito de evitar a disseminação de patógenos contagiosos causadores de mastite (GONÇALVES; TOMAZI; SANTOS, 2017), sendo necessário a realização de exames clínicos, avaliação macroscópica, celular e microbiológica do leite de forma contínua (SOUZA et al., 2019).

Quando se trata dos fatores de risco associados à mastite tem-se o sistema de criação, a não separação do rebanho doente do sadio, limpeza das instalações e equipamentos da ordenha, além da falha no pré e pós-dipping, o número de lactação, o tipo de ordenha (ACOSTA et al. 2016), e mais especificadamente, a pele do úbere, as mãos dos responsáveis pela ordenha e as soluções antissépticas (SARTORI; SANTOS; MARIN, 2012).

O uso indiscriminado de antissépticos no pré-dipping e no pós-dipping aparentemente pode ser eficaz, entretanto pode causar lesões do epitélio mamário, indução da resistência bacteriana e presença de resíduos no leite (MORÃO et al., 2015), o que resulta num número limitado de antissépticos a serem usados na lavagem de tetos. Logo, os estudos na busca de novos fármacos e substâncias estão voltados para os óleos essenciais e extratos de plantas como o extrato etanólico de *M. tenuiflora* com ação antimicrobiana em isolados de mastite bovina (FANIN et al., 2020). Outro exemplo, foi o depósito da patente BR 10 2018 076640 6 referente ao uso de *Spondia mombin* L. como antimicrobiano usado em animais.

2.4.1 Mastite

A palavra mastite é originária dos termos gregos mastos, “peito”, e itis, “inflamação de” (QUINN et al., 2015; SÁ et al., 2018). É uma síndrome plurietiológica e multifatorial, responsável por perdas na indústria leiteira com gastos em programas de controle e profilaxia

e a diminuição em quantidade e qualidade de leite produzido, além de poder, no caso de uma infecção sistêmica, acarretar na morte do animal. É o resultado da entrada de microrganismos no teto animal, de sua capacidade de colonização, grau de virulência da cepa e da capacidade de resposta do hospedeiro (ACOSTA et al. 2016). Além disso, Souza et al. (2019) referenciaram uma estimativa de perdas na produção de leite de cabras portadoras de mastite subclínica variando de 55 kg a 132 kg de leite/ano, com reduções de 3 g de gordura/Kg de leite por animal.

A mastite pode ser classificada como contagiosa ou ambiental, considerando os microrganismos responsáveis pela infecção. A mastite contagiosa é geralmente causada por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus* coagulase-negativa (SCNs). Enquanto que, na mastite ambiental os microrganismos causadores são patógenos oportunistas, geralmente bactérias encontradas nas fezes e água contaminadas, tais como: *Escherichia coli* e *Pseudomonas* spp. (PÉREZ et al., 2020), ocorrendo principalmente no pós-parto e em épocas chuvosas (DREVES, 2017). Estima-se que em 51,2 % de rebanhos de caprinos já tenham relatado sinais clínicos dessa doença (SILVA et al., 2015).

A prevalência de mastite clínica é de 0,15%, ao passo que na subclínica são observadas variações de 11,49% a 30,70% em estudos na região Nordeste (ACOSTA et al., 2016). Nos caprinos, a mastite subclínica é causada principalmente pelos agentes patogênicos *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. frequentemente encontrados em infecções intramamárias, com *Staphylococcus* como principal agente etiológico (BARROS et al., 2018; SANTOS JUNIOR et al., 2019). Com isso, as práticas de pré e pós-dipping com soluções antissépticas de forma correta podem reduzir casos de mastites subclínicas em até 85% (SILVA et al., 2015).

A profilaxia é baseada na utilização de antimicrobianos e antissépticos, contudo, o mau uso desses fármacos pode acelerar o processo natural de resistência microbiana, dificultando a sua prevenção e controle (VIEIRA et al., 2018). Nessa perspectiva, os principais mecanismos de ação dos antimicrobianos envolvem inibição da síntese da parede celular, de proteínas, e de ácidos nucleicos, também agem na desorganização da membrana celular e interferência no metabolismo celular (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Com base nesses mecanismos, os microrganismos usam como estratégias a inativação enzimática do antimicrobiano, modificação do alvo do antibiótico, bombas de efluxos de antimicrobianos, alteração na permeabilidade da membrana e formação de biofilmes, esses mecanismos de resistência podem ser oriundos de uma característica intrínseca de algumas

espécies de bactérias, ser adquirido como resultado de mutações ou adquirido pela aquisição de material genético exógeno (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

2.4.2 Microrganismos causadores de mastite

As diversas condições climáticas do país, os sistemas de produção e a densidade animal por área de exploração, existe uma diversidade de agentes etiológicos causadores de mastite, sendo classificados em contagiosos e ambientais. Os principais representantes do primeiro grupo são *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* que são transmitidos de animal para animal e de teto para teto durante a ordenha multiplicando-se sobre ou dentro da glândula mamária (ACOSTA et al. 2016; SÁ et al., 2018). *S. aureus* é prevalente em casos de mastite contagiosa, causando a mastite subclínica que depende do grau de infecção, virulência da cepa e da resistência do animal hospedeiro, causando o aumento na Contagem de Células Somáticas (CCS) (FREITAS et al., 2018).

Os agentes etiológicos de mastites ambientais são causados por um grupo composto de três tipos de bactérias, coliformes, *Streptococcus* ambientais e enterococos, os principais representantes do grupo de coliformes são *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* (VESCO et al., 2017) e *Pseudomonas aeruginosa* (SANTOS JUNIOR et al., 2019). A mastite por agentes ambientais acontece principalmente quando a imunidade do hospedeiro está comprometida e/ou quando as condições higiênicas sanitárias não são favoráveis (ACOSTA et al. 2016).

2.4.2.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus é Gram-positivo, catalase-negativo e coagulase-positivo, anaeróbio facultativo, com cocos capsulares, não móveis e não formadores de esporos (PÉREZ et al. 2020). Existem 47 espécies e 24 subespécies de *Staphylococcus* divididos em dois grupos com base na capacidade de coagular o plasma, chamados de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) e *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) (EUZÉBY, 2013), sendo o primeiro grupo com maior capacidade de virulência e, portanto, capaz de causar mais danos ao hospedeiro. Essa espécie possui genes de fatores de virulência e resistência contra vários antimicrobianos (Tabela 3) (ACOSTA et al. 2016), além da produção de toxinas extracelulares como as enterotoxinas estafilocócicas (SÁ et al., 2018).

A inflamação por *S. aureus* associada a esses fatores de virulência causam danos aos tecidos e letalidade, promovendo ainda uma incapacidade de receber sinais inflamatórios, o que leva a um supercrescimento bacteriano prejudicial (SEILIE; WARDENBURG, 2017). Ademais, pode ocorrer formação microabscessos e tecido fibroso, reduzindo a passagem do antimicrobiano ao local da infecção (ALMEIDA, 2020). Os fatores de virulência de *S. aureus* são proteína A, polissacarídeo capsular, adesinas, coagulase, lipases, hialuronatolase, hialuronidase, proteases e hemolisinas o que ocasiona uma taxa de cura baixa (FIGUEIREDO, 2018). Além disso, *S. aureus* são capazes de formar biofilmes que são comunidades bacterianas, envoltas por uma matriz polimérica extracelular. Sua formação inicia com a adesão da célula bacteriana na superfície, posterior maturação e por último sua ruptura e dispersão (PEIXOTO et al., 2015), contribuindo para infecções recorrentes e persistentes (PÉREZ et al., 2020; ALMEIDA, 2020).

2.4.2.2 *Streptococcus* sp.

Streptococcus spp. são cocos Gram positivos, imóveis (com algumas exceções), catalase negativos, oxidase negativo, e a maioria é anaeróbia facultativa, com algumas de crescimento capnófilico e homofermentativas. São classificados em alfa, beta e gama de acordo com capacidade de provocar lise em eritrócitos, causando hemólise incompleta, total ou nenhuma, respectivamente. São classificados de acordo com antígenos em 6 grupos, com destaque para o grupo B (GBS) onde está *S. agalactiae*, (beta ou gama-hemolítico) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). O GBS pode colonizar diferentes tecidos o que tem sido associado a genes de virulência, alguns desses genes são relacionados à adesão e invasão, danos nos tecidos e evasão imunológica (Tabela 3) (CARVALHO-CASTRO et al., 2017).

Assim como *S. aureus*, os GBS são capazes de formar biofilmes que facilitam a sua sobrevivência e proliferação, aumentando a resistência às defesas do hospedeiro. *S. agalactiae*, um representante desse grupo, possui uma estrutura chamada Pili com origem nos genes ilhas *PI-1*, *-2a* e *-2b* as quais auxiliam na formação dos biofilmes (ROSINI; MARGARIT, 2015). Portanto, *Streptococcus* spp. é um dos gêneros mais frequentes em mastites bovinas de acordo com os estudos de Zimmermann & Araújo (2017) e Mesquita et al. (2020).

Geralmente são encontrados em superfícies que estiveram em contato recente com o leite contaminado, incluindo o equipamento de ordenha, mãos dos ordenhadores e o material da cama, sendo disseminado principalmente durante a ordenha (VESCO et al., 2017). Desse

modo, a infecção intramamárias causada por *S. agalactiae* está associada a elevada contagem de células somáticas no leite e uma infecção latente e crônica. O seu tratamento inclui a diminuição da exposição dos tetos aos patógenos, medidas de higiene antes e após a ordenha, aumento da resistência imunológica com nutrição adequada e antibioticoterapia (SÁ et al., 2018). Além disso, pode-se realizar a blitz terapia, que consiste no tratamento de todos os animais que estão infectados com a bactéria (DREVES, 2017).

2.4.2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas spp. são caracterizados como bacilos Gram-negativos, aeróbios, oxidase positivos e catalase negativos (SÁ et al., 2018), sendo capaz de sobreviver em diversos ambientes (PANG et al., 2019). Essa bactéria tem um notável conjunto de mecanismos de resistência a antimicrobianos a sua disposição, incluindo a resistência intrínseca e adaptativa (Tabela 3) (HORCAJADA et al., 2019), exemplo é a *P. aeruginosa* em biofilme, na qual é capaz de ativar o *Katb* (gene indutor de catalase), podendo neutralizar peróxido de hidrogênio (ORSI, 2017), o qual proporciona versatilidade metabólica e alta adaptabilidade às mudanças ambientais (PANG et al., 2019).

Não obstante, genes que promovem a superexpressão de bombas de efluxo foram relatados em resistência a compostos de amônio quaternário (QAC's) (Tabela 3) (MUÑOZ, 2019), antisséptico que pode ser utilizado no pós-dipping. Além disso, essa bactéria possui o gene *LasB* capaz de destruir componentes teciduais do hospedeiro como as células produtoras e secretoras do leite, e ainda, interfere nos mecanismos de defesa do organismo animal dificultando o processo de tratamento (Tabela 3) (SILVA, 2016).

No úbere dos animais acometidos surgem sinais similares as mastites ocasionadas por coliformes com decréscimo na produção. Pode ainda ser observado sinais de hiperemia, edema e sensibilidade a palpação. O mais relevante 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 principalmente relacionada à 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 contaminadas durante a terapia intramamárias. O controle perpassa em manter a qualidade da água e efetuar os procedimentos de ordenha em boas condições higiênicas sanitária (SÁ et al., 2018).

2.4.2.4 *Escherichia coli*

E. coli é bacilo Gram-negativo normalmente encontrado no trato gastrointestinal humano e de animais. É amplamente distribuído no ambiente natural, em animais de produção, resíduos agrícolas, resíduos de água não tratada, aquicultura e no solo (ZHANG et al., 2020).

Essa bactéria é classificada de acordo com um conjunto particular de genes, essenciais para o desenvolvimento de determinada doença, sendo classificada em diferentes patótipos conforme os genes associados a patogenicidade. 5 grupos foram estabelecidos de acordo com os fatores propriedades de virulência, interação com a mucosa intestinal, e sintomas clínicos que ocasionam, são eles, *E. coli* enterotoxigênicas (ETEC), *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), *E. coli* shigatoxigênicas ou verotoxigênicas (STEC ou VTEC), *E. coli* uropatogênicas (UPEC) e *E. coli* enteroinvasivas (EIEC) (GYLES; FAIRBROTHER, 2010). *E. coli* possui como fatores de resistência as β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), os quais possibilitam a inativação enzimática dos antimicrobianos, além de genes de resistência (Tabela 3) (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Vários fatores de virulência (toxinas, autotransportadores tipo II, efetores III e a fimbria) foram estudados, mas ainda não conseguem esclarecer o conjunto de virulência associado às cepas frequentemente causadoras de mastite, acredita-se que genes específicos devem estar associados a fenótipos que auxiliam no estabelecimento da *E. coli* no tecido mamário, entre eles, a resistência a fagocitose e a capacidade de estimular resposta pró-inflamatória por células epiteliais mamárias (KEMPF et al., 2016). Devido a isso, pode-se deduzir que cepas causadoras de mastite não apresentam fatores de virulência específicos, mas podem estar associadas à pressão seletiva de virulência específica ou fatores de aptidão (OLSON, 2018; ZHANG, et al., 2020). Ademais, *E. coli* também é capaz de formar biofilmes, e consegue resistir a ação de antimicrobianos como o hipoclorito de sódio (RECH et al., 2016).

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

A porta de entrada na glândula mamária é o canal do teto em contato com o ambiente contaminado. Elas se multiplicam no interior da glândula mamária sem se fixarem nas superfícies epiteliais. O controle da infecção causada por essa bactéria inclui a melhoria das condições de higiene do ambiente de ordenha, redução da umidade, um melhor sistema de ventilação nos espaços disponíveis aos animais, fornecimento de minerais com o intuito de aumentar a capacidade imune do animal e o uso de programas de vacinação (SÁ et al., 2018).

Tabela 3. Genes de virulência e genes que conferem resistência a antissépticos.

GENES	AÇÃO	REFERÊNCIA
<i>Staphylococcus aureus</i>		
<i>icaABCD</i>	Facilita a aderência e colonização ao epitélio da glândula mamária	ORSI, 2017 elaborado
<i>mar, seb, sec, sed, veja</i>	Atividade superantigênica – induz forte atividade mitogênica celular, liberação de citocinas pró-inflamatórias	PÉREZ et al. 2020 adaptado
<i>tst</i>	Atividade superantigênica – induz a secreção de altos níveis de citocinas	
<i>hla, hlb</i>	Invasão bacteriana e escape da resposta imune do hospedeiro	
<i>lukMF</i>	Redução das defesas do hospedeiro	
<i>Streptococcus sp.</i>		
<i>Pilus Island 1 (PI-1), PI-2^a, PI-2b</i>	Adesão e invasão	ROSINI; MARGARIT, 2015 adaptado
<i>Cfb, hylFB</i>	Danos aos tecidos	CARVALHO-CASTRO et al. 2017 adaptado
<i>bac, bca</i>	Evasão imunológica	
<i>PauA e PauB</i>	Ativador de plasminogênio alternativo (burlar sistema imune)	ORSI, 2017 adaptado
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>sugE(c), emrE, ydgF, mdfA</i>	Superexpressão de bombas de efluxo	MUÑOZ, 2019 adaptado
<i>PmrA, phoQ, colR</i>	Modificação de lipopolissacarídeos	HORCAJADA et al. 2019 adaptado

<i>LasB</i>	Destrói componentes teciduais do hospedeiro e interfere nos mecanismos de defesa	SILVA, 2016 adaptado
<i>Apr</i>	Envolvida na destruição de componentes do sistema de defesa do hospedeiro	SILVA, 2016 adaptado
<i>Escherichia coli</i>		
<i>AcrR</i>	Codificador do sistema de efluxo AcrAB-TolC	COSTA; SILVA JUNIOR, 2017 adaptado
<i>HlyA</i>	Codifica hemolisina (Mecanismo de adesão).	KLAUS, et al. 2020 elaborado
<i>iss</i>	Produção de uma lipoproteína da membrana externa bacteriana (confere resistência imune ao hospedeiro)	MACIEL, 2019 adaptado

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A. C. et al. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 7, p. 565-573, 2016.
- ALBUQUERQUE, T. E. de F. **Extração, caracterização e avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante da piperina proveniente da *Piper Nigrum***. 2020. 54 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) – Centro Universitário Christus, Fortaleza, 2020.
- ALMEIDA, J. F. et al. Principais alterações no leite por agentes causadores de mastite no rebanho caprino dos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 1, p. 13-18, 2013.
- ALMEIDA, M. J. G. de. **Caracterização e fracionamento do extrato pirolenhoso de eucalipto**. 2019. 90 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) – Instituto Politécnico de Tomar, Tomar, 2019.
- ALMEIDA, T. V. de. **Fatores de risco para mastite bovina e avaliação fenotípica de resistência antimicrobiana**. 2020. 96 p. Tese (Doutorado em Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2020.
- 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, 2017.
- AMANCIO, A. M. et al. Estudo da ação antimicrobiana de extratos de plantas do gênero *Psidium*. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 13, n. 1, p. 644-652, 2015.
- ARAÚJO, E. R. D. et al. Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera Colubrina* frente à bactérias gram negativa e gram positiva. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**, v. 5, n. 3, p. 66-71, 2015.
- ARCANJO, A. H. M. et al. Programa dos seis pontos de controle da mastite em rebanhos leiteiros. **Global Science Technology**, Rio Verde, v. 10, n. 1, p. 78 – 88, 2017.
- ARRUDA, E. L.; ANDRADE, A. M.; DIAS JÚNIOR, A. F. Produção e ativação do carvão vegetal de três espécies florestais. **Revista Floresta**, v. 47, n. 3, 2017.

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, 2017.

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**. 2019. 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, 2018.

BARROS, A. F. et al. Diagnóstico e etiologia de mastite subclínica em caprinos leiteiros. **Revista Ciência Agrícola**, v. 16, p. 1-3, 2018.

BARROS, D. L. de; REZENDE, F. A. de; CAMPOS, A. T. Production of *Eucalyptus urograndis* plants cultivated with activated biochar. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 14, n. 2, 2019.

BARROS, S. L. et al. Avaliação dos parâmetros de qualidade dos leites de cabra comercializados em Monteiro – PB. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 4, n. 1, p. e7662, 2019.

BEZERRA, A. C. D. S. et al. **Fitoterapia e a Ovinocaprinocultura: uma associação promissora**, Rio Grande do Norte, EduUFERSA, 2018, p. 160.

BOGORNÍ, P. C. et al. Avaliação do efeito do ácido pirolenhoso de três espécies arbóreas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). **Bioikos**, v. 22, n. 2, p. 109-115, jul/dez. 2008.

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

BRIANEZI, D. et al. Balanço de carbono em monocultivo de eucalipto com diferentes arranjos espaciais. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 9, n. 1, p. 27-33, maio. 2019.

CAMPOS, A. D. **Técnicas para produção de extrato pirolenhoso para uso agrícola.** Embrapa Clima Temperado - Circular Técnica 65, Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2007.

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, 2016.

CANAL, W. D. et al. Comportamento térmico e emissão de gases condensáveis e não condensáveis no processo de carbonização da madeira. **Revista Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v.36, n. 87, p. 261-267, 2016.

CARNEIRO, F. M. et al. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, UEG/Câmpus de Iporá. V. 3, n. 2, p. 44-75, 2014.

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, 2016.

CARVALHO-CASTRO, G. A. et al. Molecular epidemiology of *Streptococcus agalactiae* isolated from mastitis in Brazilian dairy herds. **Brazilian journal of microbiology**, v. 48, n. 3, p. 551-559, 2017.

CHATTERJEE, N. et al. Toxic potentiality of bio-oils, from biomass pyrolysis, in cultured cells and *Caenorhabditis elegans*. **Environmental toxicology**, v. 29, n. 12, p. 1409-1419, 2014.

CHEMANE, I. A. **Vinagre pirolenhoso de *Eucalyptus* sp. como alternativa antimicrobiana na dieta de frango de corte.** 2018.72 p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2018.

CHIAMENTI, L. et al. Ação antibacteriana do licor pirolenhoso sobre coliformes. **Revista Conhecimento Online**, Novo Hamburgo, v. 2, p. 47-54, 2016.

CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas. v.16, n.3, p.685-692, 2014.

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

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, 2012.

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 ovariosalpingohisterectomia e orquiectomia**. 2018. 53 p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró, 2018.

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

DIÓGENES, G. V. **Extrato pirolenhoso como aditivo na ração de codornas europeias criadas em dois tipos de cama**. 2017. 34 p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2017.

DREVES, A. **Teste de desafio natural frente a antissépticos comerciais à base de ácido láctico e iodo no manejo de pré e pós-ordenha em vacas leiteiras**. 2017. 47 p. Monografia (Graduação em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2017.

EMBRAPA, 2018. **Novo Censo Agropecuário mostra crescimento de efetivo de caprinos e ovinos no Nordeste**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) – Caprinos e Ovinos, EMBRAPA, Sobral, CE, 2018.

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, 2020.

EUZÉBY, J. P. **List of Bacterial names with Standing in Nomenclature**. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.html>> Acesso em: 2 jul. 2019.

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

FEIJÓ, F. M. C. et al. **Extrato, método de extração e uso de extrato de *Spondias mombin* como agente antimicrobiano.** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ARIDO – UFERSA; BR 10 2018 076640 6, 20 dez. 2018.

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, 2017.

FIGUEIREDO, C. H. A. de. **Micro-organismos causadores da mastite bovina e suas consequências na cadeia agroindustrial.** 2018. 37 p. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais) – Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2018.

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, 2018.

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, 2019.

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, 2019.

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, 2017.

GUIRALDO, N. et al. Mistura de ácido pirolenhoso com glifosato no controle de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. **Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura**, v. 81, n. 2, p. 202-211, 2006.

GYLES, C. L.; FAIRBROTHER, J. M. **Pathogenesis of bacterial infections in animals.** 4ed. New York: Wiley-Blackwell, 2010. p. 267-308.

HERRY, V. et al. Local immunization impacts the response of dairy cows to *Escherichia coli* mastitis. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1-18, 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, out. 2019.

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

JANKOWSKY, L. et al. Antimicrobial Activity of the Methanolic Fraction of Bamboo Pyroligneous Liquor. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, p. 924-934, 2018.

KEMPF, F. Genomic Comparative Study of Bovine Mastitis *Escherichia coli*. **Public Library of Science ONE**, v. 11, n. 1, p. 1-22, 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, 2020.

LEONÊZ, C. F. et al. Efficacy of the decoction of cashew leaf (*Spondias mombin* L.) as a natural antiseptic in dairy goat matrices. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 13, p. 644-649, mar. 2018.

LIMA, B. G. **CAATINGA espécies lenhosas e herbáceas**. Editora EduUFERSA. MossoróRN, Brasil, 2011. 316 p.

LIMA, G. G. de et al. The evaluation of the potential ecotoxicity of pyroligneous acid obtained from fast pyrolysis. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 180, p. 616-623, 2019.

LOAIZA, J. M. et al. Efeito da auto-hidrólise na extração de hemicelulose e produção de hidrogênio pirolítico de *Eucalyptus urograndis*. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-10, jul. 2020.

LOPES, N. P. et al. Efeito do extrato pirolenhoso de *Cinnamomum zeylanicum* e *Mimosa caesalpiniiifolia* sobre o parasita *neoechinorhynchus buttnerae*/Effect of the pineyly extract of *Cinnamomum zeylanicum* and *Mimosa caesalpiniiifolia* on the parasite *neoechinorhynchus buttnerae*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 20798-20808, 2020.

LUCENA, R. F. P. et al. Conhecimento local e uso de espécies vegetais nativas da região da Serra de Santa Catarina, Paraíba, Nordeste do Brasil. **FLOVET-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 9, 2017.

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, 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, 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, 2020.

MARCONDES, C. J. **Biorrefinaria para produção de furfural, lignina e etanol através da polpação soda com pré-hidrólise da madeira de *Eucalypto urograndis***. 2019. 76 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Guaratinguetá, 2019.

MEDEIROS NETO, P. N. de et al. Características físico-químicas e energéticas de duas espécies de ocorrência no semiárido brasileiro. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 579-588, 2012.

MEDEIROS, A. J. D. de. **Aspectos tecnológicos e sociais do potencial antimicrobiano de plantas do semiárido sobre cepas bacterianas isoladas de caprinos**. 2013. 119 p. Dissertação (Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2013.

MEDEIROS, L. C. D. de et al. Effect of pyrolysis heating rate on the chemical composition of wood vinegar from *Eucalyptus urograndis* and *Mimosa tenuiflora*. **Revista Árvore**, v. 43, n. 4, e430408, 2019.

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

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, 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. 216-230, 2017.

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, 2018.

MORÃO, R. P. et al. Produtos convencionais e extratos de plantas medicinais utilizados na higienização de tetos de bovinos leiteiros. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 260-270, jan./abr. 2015.

MOREIRA, T. da S. et al. Influence of pyroligneous extract on water quality and productive performance of *Penaeus vannamei*/Influência do extrato pirolenhoso na qualidade de água e no desempenho produtivo de *Penaeus vannamei*. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p. 33471-33487, 2019.

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, 2019.

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

NURHAYATI, T.; ROLIADI, H.; BERMAWIE, N. Production of Mangium (*Acacia Mangium*) wood vinegar and its utilization. **Journal of Forestry Research**, v. 2, n. 1, p. 1325, 2005.

OLIVEIRA, V. J. S. Caracterização das Produções Científicas Sobre Levantamento Etnobotânico de Plantas Medicinais: Revisão Integrativa. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v.21, n.1, p. 42-47, 2017.

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, 2018.

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, 2017.

PAIVA, H. N. et al. **Cultivo de Eucalipto: implantação e manejo.** Editora Aprenda Fácil. Viçosa-MG, Brasil, 2011. 354p.

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

PAULA, J. E.; ALVES, J. L. H. 897 **Madeiras nativas do Brasil: anatomia-dendrologia-dendrometria-produção-uso.** Editora Cinco Continentes. Porto Alegre, Brasil, 2007. 438p.

PEIXOTO, A. F. **Produção de biofilme e perfil de sensibilidade aos desinfetantes de *Staphylococcus coagulase positiva* causadores de mastite subclínica em vacas.** 2017. 51 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2017.

PEIXOTO, M. M. R. et al. Ação dos desinfetantes sobre a adesão e biofilme consolidado de *Staphylococcus spp.* **Pesquisa Veterinária Brasileira**, UFSM, v. 35, n. 2, p. 105-109, 2015.

PEREIRA JÚNIOR, L. R. et al. Espécies da Caatinga como alternativa para o desenvolvimento de novos fitofármacos. **Revista Floresta Ambiente**. [Online]. v.21, n.4, p.509-520, 2014.

PÉREZ, V. K. C. et al. Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 22, p. 1-11, 2020.

PIMENTA, A. et al. Chemical composition of pyroligneous acid obtained from *Eucalyptus* GG100 clone. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 426, 2018.

PIMENTA, A. S. et al. Evaluation of acute toxicity and genotoxicity of liquid products from pyrolysis of *Eucalyptus grandis* wood. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 38, n. 2, p. 169-175, 2000.

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, out/dez. 2020.

PORTO, F. G. da S.; CAMPOS, Â. D.; GARCIA, I. T. S. Distilled pyroligneous liquor obtained from *Eucalyptus urograndis* and chitosan: physicochemical properties of the solution and films. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 1, p. 672-683, 2018.

PRODUÇÃO DA PECUÁRIA MUNICIPAL 2017. **Investigação das informações sobre os efetivos das espécies animais criadas e os produtos da pecuária, tendo como unidade de coleta o município**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017.

QUEIROZ, A. C. da S.; BIZERRA, 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, 2018.

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

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

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, 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...**, 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% chlorhexidine digluconate in solution. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 4621-4634, 2020.

RIBASKI, J. Desempenho de espécies de *Eucalyptus* para uso em sistemas de integração floresta-pecuária no bioma Pampa. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 38, e201801638, p. 1-9, 2018.

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, 2019.

RIBEIRO, D. A. et al. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no Estado do Ceará, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileiras de Plantas Mediciniais**, Campinas. V.16, n.4, p.912-930, 2014.

RIBEIRO, L. V. **Contribuição ao estudo do extrato pirolenhoso no ambiente: ecotoxicologia, histopalogia e análise de parâmetros espermáticos em *Eisenia andrei***. 2016. 89 p. Dissertação (Mestrado em Sistemas de Produção Agrícola Familiar) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

RIBEIRO, S. C.; MELO, N. D. P.; BARROS, A. B. Etnoconhecimento de pequenos agricultores tradicionais sobre plantas medicinais no tratamento de dores provocadas pelo trabalho. **Caderno Terapia Ocupacional**. UFSCar, São Carlos, v. 24, n. 3, p. 563-574, 2016.

RICARDO, S. D. F. et al. Reference collection of plant phytoliths from the Caatinga biome, northeast Brazil. **Revista Flora**, v. 249, [s. n.], p. 1-8, 2018.

ROCHA, H. S. da et al. Caracterização físico mecânica da madeira de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) visando seu emprego na indústria moveleira. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, p. 262-267, 2015.

ROSINI, R.; MARGARIT, I. Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: influence of environmental conditions and implicated virulence factors. **Frontiers in Cellular Infection Microbiology**, v. 5, p. 1-4, fev. 2015.

SÁ, J. P. N. et al. Os principais microorganismos causadores da mastite bovina e suas consequências na cadeia produtiva de leite. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental** (Pombal - PB - Brasil) v. 12, n.1, p.01- 13, jan/mar. 2018.

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, 2019.

SANTOS, M. D. et al. Eficiência do óleo de Nim e do extrato Pironim sobre o ácaro vermelho do tomateiro *Tetranychus evansi* baker & pritchard (acarí: tetranychidae). **Revista Ciência Agrícola**, Rio Largo, v. 15, n. 2, p. 53-59, 2017.

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

SCHMITZ, T. et al. Dejeito suíno e extrato pirolenhoso–influência na retenção/lixiviação de metais no solo. **Revista Liberato**, v. 18, n. 29, p. 65-74, 2017.

SCHNITZER, J. A. et al. Doses de extrato pirolenhoso no cultivo de orquídea. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n.1, p. 101-106, 2015.

SEILIE, E. S.; WARDENBURG, J. B. *Staphylococcus aureus* pore-forming toxins: The interface of pathogen and host complexity. **In: Seminars in cell & developmental biology. Academic Press**, v. 72, p. 101-116, 2017.

SENA, M. F. M., et al. Potencialidades do extrato pirolenhoso: práticas de caracterização. **Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas - UFSM, Santa Maria, Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental - REGET**. v. 18. Ed. Especial mai. p. 41-44, 2014.

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, Dez. 2012.

SILVA, C. J. Da et al. Uso do licor pirolenhoso na produção de mudas *in vitro* e *ex vitro* de *Oeceoclades maculata* (Lindl). Lindl. **Revista Caatinga [online]**. v. 30, n.4, p.947-954, 2017.

SILVA, F. T. M.; ATAÍDE, C. H. Valorization of *Eucalyptus urograndis* wood via carbonization: Product yields and characterization. **Energy**, v. 172, p. 509-516, 2019.

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, 2015.

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

SILVA, W. E. de L. et al. Concentração bactericida mínima de desinfetantes comerciais frente à *Staphylococcus* spp. Isolados de mastite em caprinos e detecção do gene *icaD*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, p. 1-8, e-53193, 2019.

SOLETTI, I. **Análise sensorial dinâmica de bacon defumado com madeiras de reflorestamento: um estudo com consumidores.** Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

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, J. L. S. de et al. Antimicrobial potential of pyroligneous extracts – a systematic review and technological prospecting. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 128-139, 2018.

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, 2019.

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.

TORRES, N. H. et al. Aproveitamento sustentável dos subprodutos da madeira e das folhas para extração de óleos essenciais. **Bioenergia em Revista: Diálogos** (ISSN: 2236-9171), v. 4, n. 1, p. 09-22, 2014.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

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

TRINDADE, R. C. P. et al. Eficiência do extrato pirolenhoso sob diferentes concentrações para o controle da *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, [S.l.], v. 9, n. 3, 2015.

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 antisepsia pré-operatória das mãos com duas substâncias antissépticas. **Revista Interdisciplinar**, v. 9, n. 3, p. 112-120, 2016.

VECHI, A. de; MAGALHÃES JÚNIOR, C. A. de O. Aspectos positivos e negativos da cultura do eucalipto e os efeitos ambientais do seu cultivo. **Revista Valore**, Volta Redonda, v. 3, n. 1, p. 495-507, Jan./Jun. 2018.

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

VESCO, J. D. et al. Monitoramento dos agentes causadores de mastite e a susceptibilidade aos antimicrobianos. **Expressa Extensão**, v.22, n.1, p. 34-50, 2017.

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, W. T. **Caracterização cromatográfica e avaliação da atividade antimicrobiana do extrato pirolenhoso obtido a partir de biomassas residuais**. 2019. 140 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2019.

VIERA, P. V. A. **Complexação de guaiacol com β -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, 2015.

WANDERLEY, C. da S.; FARIA, R. T. de; VENTURA, M. U. Adubação química, adubação orgânica e extrato pirolenhoso no desenvolvimento de mudas de palmeiras fênix (*Phoenix roebelenii*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2233-2239, 2012.

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.

ZIMERMANN, K. F.; ARAÚJO, M. E. M. Mastite bovina: agentes etiológicos e susceptibilidade a antimicrobianos. **Revistas Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p.1-7, 2017.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antisséptico dos extratos pirolenhosos de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) e Eucalipto (*Eucalyptus urograndis*) no pós-dipping de cabras leiteiras.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Averiguar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos pirolenhosos de jurema preta e eucalipto;

Avaliar o potencial citotóxico dos extratos pirolenhosos de jurema preta e eucalipto;

Testar *in vivo* os extratos pirolenhosos de jurema preta e eucalipto como antissépticos;

Averiguar a influência dos extratos pirolenhosos de jurema preta e eucalipto na qualidade físico-química do leite de cabra.

CAPÍTULO 1 - PYROLIGNEOUS ACID FROM *Mimosa tenuiflora* AND *Eucalyptus urograndis* AS AN ANTISEPTIC IN DAIRY GOATS

Journal of Applied Microbiology

Impact Factor 3,066

A2 Medicina veterinária

A2 Ciências ambientais

CAPÍTULO 1 - PYROLIGNEOUS ACID FROM *Mimosa tenuiflora* AND *Eucalyptus urograndis* AS AN ANTISEPTIC IN DAIRY GOATS

SOARES, W. N. C.; LIRA, G. P. de O.; SANTOS, C. S. S.; DIAS, G. N.; PIMENTA, A. S.; PEREIRA, A. F.; BENÍCIO, L. D. M.; RODRIGUES, G. S. de O.; AMORA, S. S. A.; ALVES, N. D. and FEIJÓ, F. M. C.

Abstract

Aims: To evaluate the applicability of the *Mimosa tenuiflora* and *Eucalyptus urograndis* pyroligneous acids (PAs) as alternative antiseptics in dairy goats.

Methods and Results: Cytotoxicity was evaluated in goat cells, *in vitro* using bacteria, as well as *in vivo* using goats, and the influence of PAs on the physicochemical parameters of fresh milk were examined. The cytotoxicity of PAs was evaluated in terms of morphology, cell viability, and metabolic activity of goat tegumentary cells. The PA of *M. tenuiflora* had results similar to those of 2% iodine. For the *in vitro* tests, strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* were used with the well technique, demonstrating inhibition halos greater than 9 mm. In the *in vivo* test, 15 animals were used per phase of the experiment, and the plate counting technique showed that there was antiseptic action of both extracts, with emphasis on the *M. tenuiflora* PA. Physicochemical analysis of the milk showed that neither PAs interfered with its physicochemical parameters.

Conclusions: The PA of *M. tenuiflora* presented potential as an alternative antiseptic in dairy goats.

Significance and Impact of the Study: This study demonstrates the use of PA as an antimicrobial agent in animals.

Key Words: Pyroligneous acid, *Mimosa tenuiflora*, *Eucalyptus urograndis*, Antiseptic, Post-dipping, Dairy goats, Physicochemical parameters, Cytotoxicity.

CAPÍTULO 1 - ÁCIDO PIROLENHOSO DE *Mimosa tenuiflora* E *Eucalyptus urograndis* COMO ANTISSEPTICO EM CABRAS LEITEIRAS

Resumo

Objetivos: Avaliar a aplicabilidade dos ácidos pirolenhosos (PAs) de *Mimosa tenuiflora* e *Eucalyptus urograndis* como antissépticos alternativos em cabras leiteiras.

Métodos e Resultados: A citotoxicidade foi avaliada em células caprinas, *in vitro* usando bactérias, e *in vivo* usando cabras, e a influência dos PAs nos parâmetros físico-químicos do leite fresco foi examinada. A citotoxicidade dos PAs foi avaliada em termos de morfologia, viabilidade celular e atividade metabólica das células tegumentares de cabra. O PA de *M. tenuiflora* teve resultados semelhantes aos do iodo 2%. Para os testes *in vitro*, cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* foram utilizadas com a técnica de poço, demonstrando halos de inibição maiores que 9 mm. No teste *in vivo*, foram utilizados 15 animais por fase do experimento, e a técnica de contagem em placas mostrou que houve ação antisséptica de ambos os extratos, com destaque para PA *M. tenuiflora*. A análise físico-química do leite mostrou que nenhum dos PAs interferiu em seus parâmetros físico-químicos.

Conclusões: O PA de *M. tenuiflora* apresentou potencial como um antisséptico alternativo em cabras leiteiras.

Significância e impacto do estudo: Este estudo demonstra o uso de PA como agente antimicrobiano em animais.

Palavras-chave: Ácido pirolenhoso, *Mimosa tenuiflora*, *Eucalyptus urograndis*, Antisséptico, Pós-imersão, Cabras leiteiras, Parâmetros físico-químicos, Citotoxicidade.

Introduction

Pyroligneous acid (PA) is a liquid obtained from the condensation of gases during the slow pyrolysis of wood. Pyroligneous acid is also referred to as pyroligneous liquor, wood vinegar, liquid smoke, pyroligneous tar, pyroligneous oil, wood oil, and wood distillate (Campos 2007; Canal et al. 2016; Moreira et al. 2019).

The chemical and physical composition of PA is influenced by the chosen floral species, the wood density, and, most importantly, by the temperature used for carbonisation (Arruda et al. 2017). In addition to the characteristic odour of smoke, the colour of this liquid can vary from yellow to reddish-brown, depending on the species used (Campos 2018).

In this context, several studies have been developed to assess different forest species, and the primary species examined in this study are commonly used for agricultural and veterinary applications (Porto et al. 2019), organic insecticides (Trindade et al. 2015), animal feeding (Wang et al. 2012), treatment of swine manure (Chiamanti et al. 2016), organic fertilizers (Silva et al. 2017), antifungals (Oramahi et al. 2018; Ramos et al. 2020), antimicrobials (Jankowsky et al. 2018), and, more recently, for the distillation of pyroligneous liquor using chitosan (Porto et al. 2019).

The need for this variety of PA studies is related to the diverse composition of this liquid. PA is composed primarily of water and a mixture of various chemical compounds, including acetic acid, alcohols, ketones, phenolic compounds, lignin derivatives (Schnitzer et al. 2015) furans, and pyrans (Medeiros et al. 2019). Of these, it has been established that the phenols are present in proportion to the PA of the different forest species used (Pimenta et al. 2018), and, together with organic acids, these constitute the main components related to antimicrobial action, in which they act synergistically (Porto et al. 2019). The antimicrobial effectiveness of PA in the context of the food industry has been observed against pathogens such as *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* (Souza et al. 2018) and environmental agents such as *Escherichia coli* (Araújo et al. 2018).

These bacteria are characterized as public health pathogens, as they possess transferases that provide resistance to chloramphenicol, aminoglycosides, streptogramins, and macrolides.

Based on this, researchers are actively searching for new substances that are capable of neutralizing these bacterial resistance mechanisms (Costa and Silva Júnior 2017). Additionally, *E. coli* and *P. aeruginosa* are prevalent in cases of clinical mastitis in goats, despite the low occurrence of gram-negative microorganisms (Santos Júnior et al. 2019). Conversely, *S. aureus* is the primary etiologic agent frequently found in subclinical intramammary infections in goats (Barros et al. 2018).

The risk of infection is determined primarily by the microorganisms that colonise the teat ostium and by the ability of these organisms to penetrate the teat duct. In this context, it is critical to monitor the duration of milking in goats to control mastitis (Santos Júnior et al. 2019). To reduce the occurrence of this syndrome in dairy herds, antimicrobial and antiseptic prophylaxis are commonly used; however, the misuse of these chemicals accelerates the natural process of bacterial resistance, ultimately creating difficulties in bacterial control (Costa and Silva Júnior 2017; Vieira et al. 2018). Based on this, the majority of current studies focus primarily on herbal medicine compounds that are produced by plants and possess antimicrobial potential. These compounds include terpenes, alkaloids, and phenolic compounds (Mesquita et al. 2017).

Thus, PA, which possesses low toxicity (Pimenta et al. 2018) as assessed according to the maximum index of DNA-damaging polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and is composed of a class of compounds that is similar to that in herbal medicines, may provide a suitable alternative for use as an antiseptic or disinfectant in a wide variety of applications (Campos 2018; Lima et al. 2019). The applicability and chemical properties of PAs in various research areas make it possible to study these compounds in animals, and, based on this, we examined the potential of PAs derived from *Mimosa tenuiflora* (Jurema preta) and *Eucalyptus urograndis* (Eucalipto) for use as post-milking (post-dipping) antiseptics in dairy goats.

Materials and methods

Ethical considerations

All experimental procedures were performed in accordance with international animal standards and were submitted to the Animal Use Ethics Committee of the Federal Rural University of Semi-arid (UFERSA) with approval under protocol 06/2019.

Production and purification of pyroligneous acids (PAs)

Wood from *E. urograndis* and *M. tenuiflora* was obtained from native forests located at the Agricultural Sciences Unit of the Federal University of Rio Grande do Norte (EAJ-

UFRN) and Macaíba/Rio Grande do Norte, respectively. The wood collection and sampling procedures were performed according to the method described by Santos et al. (2013). The samples consisted of 2-cm-thick discs that were divided into wedges. The wooden wedges were oven-dried for 48 h at $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ to 0% moisture. Immediately following this, they were placed in a metal container in batches of approximately 500 g, and slow pyrolysis was then performed in an electric muffle furnace (FANEM, Guarulhos, São Paulo) equipped with a device designed to collect the condensable portion of the gases. The condenser was water-cooled and maintained at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Four carbonizations were achieved at a heating rate of $1.25\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ until the final temperature of $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ was reached; this temperature was maintained for 30 min. The total amount of condensed liquids was refrigerated at $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ until use. The four pyrolysis liquids were combined to form a composite sample. This composite sample was vacuum-distilled under 1.0 mmHg at $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, and the process was interrupted at temperatures above $102\text{ }^{\circ}\text{C}$. The wood tar and oils were discarded. After the distillation process, PA was poured into a dark container without contact with oxygen or light and then stored in a refrigerator ($6\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $10\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Consul, Joinville).

Cytotoxicity of PAs

To evaluate the cytotoxicity of the PA used in this study, we used 9 mm^3 fragments of integumentary tissue from goat teats grown *in vitro* in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Sigma, Saint Louis) supplemented with 10% foetal bovine serum and 2% antibacterial-antifungal solutions at $38.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ and 5% CO_2 . Recovered cells were frozen on the second passage for toxicity experiments. For the analysis of cytotoxicity, thawed cells were used during the third passage at 80% confluence and at a density of 5.0×10^4 cells/mL. These cells were divided into four experimental groups: Group CN0 (without the presence of PA), Group JP20 (PA of *M. tenuiflora* at 20%), Group E20 (PA of *E. urograndis* at 20%), and Group I2 (iodine solution at 2%). They were then incubated for 10 min.

After the incubation period, epithelial cells (juxtaposed and rounded) and fibroblasts (fusiform with central and oval nuclei, with few cytoplasm containing extensions) were evaluated for their morphology using an inverted microscope (Nikon TS100, Tokyo, Japan) and for viability using a 0.4% trypan blue assay, where blue stained cells were considered non-viable and colourless cells were considered viable. Metabolic activity was also examined using the 3-(4,5-dimethyl 2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2yl-tetrazolic or MMT assay. Cells were incubated with 5 mg/mL MMT for 3 h. After this period, the MMT solution was removed,

and 1.0 mL of DMSO was added to solubilize the formazan crystals. Additionally, assessments were performed using a spectrophotometer (Shimadzu UV-mini-1240, Kyoto, Japan) at an absorbance of 595 nm.

***In vitro* action of PAs on mastitis bacteria**

The *in vitro* technique was performed using the bacterial strains *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) at a density of 1×10^8 CFU/mL, and they were distributed in Petri dishes with Tryptone Soya Agar (TSA, Himedia, Mumbai) in triplicate. These plates possessed three equidistant wells. Subsequently, a 50 μ L aliquot of the produced PAs was added into each well at concentrations of 20%, 15%, and 10% according to data from preliminary studies (Araújo et al. 2018). The plates were then incubated in an oven for 24 h at 37 °C. Finally, the inhibition halos that formed were assessed (Leonêz et al. 2018).

***In vivo* testing on dairy goats**

The animals used in this study were provided by a producer from the Independência community project, a rural area in the municipality of Mossoró, RN. The collections occurred from November 2019 to February 2020. Thirty animals were used, with fifteen animals for each stage of the experiment. At each stage, the 15 animals were divided into 3 subgroups of 5 healthy females aged 2 years, 60 pounds. The animals were kept in stalls with water and balanced feed/night. During the first stage, a treatment using PA from *M. tenuiflora* was tested, and, in the second stage, a treatment using the PA from *E. urograndis* was assessed. For these experiments, the treatments included treatment I using the PA from *M. tenuiflora*, treatment II using the PA from *E. urograndis*, treatment III that assessed a positive control with 2% iodine, and treatment IV that served as a negative control using sterile distilled water. A completely randomized design (CRD) was performed. The PAs from *M. tenuiflora* and *E. urograndis* and the positive and negative controls were packaged and collected in personalized cups to allow for disinfection of the udder without returning fluid. The applications were provided once per day for 28 consecutive days. The collection of cellular debris from the teats and the replacement of the PAs were performed every 7 d for a total of 4 collections. Antiseptics were applied to the teats for 10 min, and this was followed by rubbing a sterile swab over a 1 cm³ area of the lateral surface of each teat. Each swab was placed into an identified test tube, stored in a refrigerated isothermal box, and then transported to the Veterinary Microbiology Laboratory of the Federal Rural University of the Semi-arid. The

collected samples were washed using 2 mL of sterile distilled water. Subsequently, 1 mL of the solution was transferred to a test tube containing 9 mL of sterile distilled water (corresponding to 10^1) and diluted to 10^3 . From each dilution, 1.0 mL was removed and distributed onto corresponding Tryptone Soya Agar (TSA, Himedia, Mumbai) plates in duplicate. The plates were incubated in an oven at 37 °C for 24–48 h. Next, plaque counting was performed for samples that contained 30–300 colony forming units (CFU) in accordance with the Normative Instruction No. 62 (NI 62) of August 26, 2003. The results of the colony forming unit averages were expressed as $\text{Log}_{10} \text{CFU}/\text{cm}^2$.

Physicochemical analysis of goat milk

Goat milk samples (50 mL) were collected from each animal used in the experiment. The samples were packaged in an isothermal box for refrigeration at +8 °C and then transported to the laboratory for physicochemical analysis of the dairy products. Physicochemical analysis of the goat milk samples was performed using Ekomilk Total® equipment (Bulteh, 2000, Stara Zagora, Bulgaria). The parameters evaluated included fat (F), non-fat solids (SNF), protein (P), freezing point (FP), lactose (L), hydrogen potential (pH), and conductivity (Z). The data were monitored in accordance with the Normative Instruction No. 37 (NI 37) of October 31, 2000.

Statistical analysis

For the *in vitro*, *in vivo*, and physicochemical analyses of goat milk samples, the average test (ANOVA) was applied, followed by Tukey's test at the 5% probability level using Sisvar software version 5.6.

Pearson's (r) linear correlation was also performed between the physicochemical parameters and the $\text{Log}_{10} \text{CFU}/\text{cm}^2$ at the level of 5% probability using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software version 21.

In the cytotoxicity experiment, data were expressed as average $\pm$ standard error of three repetitions using GraphPad software (Graph-Pad Software Incorporation, La Jolla, CA, USA). All results were assessed for normality according to the Shapiro-Wilk test and for homoscedasticity using the Levene test. The data did not present a normal distribution and were transformed using a sine arc. The results were analysed by ANOVA (multiple comparisons) followed by Tukey's test at a 5% probability level.

Results

Cytotoxicity of PAs

The morphologies of the incubated cells did not differ when grown in the presence of 20% PA from *M. tenuiflora*, 20% PA from *E. urograndis*, or 2% iodine solution (Figure 1A–1D).

Cell viability, assessed using the Trypan blue assay (Table 1), showed a higher percentage in cells incubated with 2% iodine solution, but there was no statistical difference between 20% *M. tenuiflora* PA, 20% *E. urograndis* PA, or negative control ($P > 0.05$).

All groups exhibited alterations in metabolic activity. However, the effects resulting from treatment with *M. tenuiflora* PA at 20% were similar to those observed after treatment with 2% iodine solution ($P > 0.05$) (Table1).

PA-induced inhibition halos

P. aeruginosa and *E. coli* exhibited inhibition halos when exposed to 20% concentrations of either of the PAs, and, for *S. aureus*, the halos were formed at a concentration of 15% (Table 2). The inhibition halos that resulted from treatment with *M. tenuiflora* PA were numerically greater than those resulting from treatment with *E. urograndis* PA.

PA performance in dairy goats

The number of colony forming units decreased over time in response to treatments with PA from *M. tenuiflora* and 2% iodine ($p < 0.05$) and increased after treatment with distilled water ($p < 0.05$). Based on this, we determined the antibacterial efficiency of the PA derived from *M. tenuiflora* (Table 3). When comparing the treatments over time, a reduction was observed from the second week onwards in response to treatments with either PA from *M. tenuiflora* or 2% iodine, and differences in the average number of bacteria were statistically significant in the third and fourth weeks ($P < 0.05$). When the treatments were analysed on a weekly basis over the course of the experiment, iodine was determined to exhibit the best performance, with an average of 0.29 Log₁₀ CFU/cm², followed by PA from *M. tenuiflora* (1.87 Log₁₀ CFU/cm²) and then distilled water (3.31 Log₁₀ CFU/cm²).

The average number of bacteria over time decreased until the third week in response to treatments with PA from *E. urograndis* and with 2% iodine ($P < 0.05$) (Table 4). This was different from observations from treatments with distilled water, where there was an increase in the average number of bacteria. For each week, when comparing treatments, a decrease in the average number of bacteria was observed during all weeks compared to the negative control, and a statistical difference was observed for up to 21 days ($P < 0.05$). When the treatments were analysed on a weekly basis over the course of the experiment, iodine

exhibited the best performance, with an average of 1.09 Log₁₀ CFU/cm², followed by PA of *E. urograndis* (2.38 Log₁₀ CFU/cm²) and water (4.26 Log₁₀ CFU/cm²).

Physicochemical parameters of goat milk

For the physicochemical parameters analysed in samples treated with PA from *M. tenuiflora*, 2% iodine, and sterile distilled water, the fat percentage, non-fat solid content, protein content, lactose content, conductivity, and pH in the analysed samples were not statistically different among treatments over time and in relation to each week ($P > 0.05$). One exception was the physical parameter of freezing point, where a statistical difference was observed in the data collected during the experimental period ($P < 0.05$) (Table 5).

For the physicochemical parameters that were analysed after treatment with PA from *E. urograndis*, 2% iodine, and sterile distilled water, the non-fat solids, protein, and lactose contents in the goat milk were significantly different in the first week when the treatments were compared ($P < 0.05$) (Table 6). With regard to the fat content parameter, treatment with PA from *E. urograndis* at 28 days was statistically superior ($P < 0.05$) to treatments with 2% iodine and distilled water. The physicochemical parameters, including fat, non-fat solids, protein, lactose, conductivity, pH, and freezing point, were not statistically different ($P < 0.05$) in any of the treatments over time. Only the conductivity parameter exhibited a weak correlation ($P < 0.01$; $r = 0.389$) with the number of colony forming units in response to treatment with PA from *E. urograndis*.

According to the NI 37 of October 31, 2000, both PAs were found to be out of range for the physicochemical standards of non-fat solids, freezing point, and lactose.

Discussion

Cytotoxicity and antimicrobial activity of PAs

Studies examining PAs have demonstrated that these compounds exhibit low toxicity (Campos, 2018), and this was observed for PA from *M. tenuiflora*. This PA also possessed similarities with 2% iodine ($P > 0.05$) with regard to metabolic activity and cell viability effects, suggesting its potential for use as an antiseptic in post-dipping applications. However, we did observe that PA from *E. urograndis* caused a higher degree of interference in the metabolic activity of goat cells compared to that caused by PA from *M. tenuiflora*. A possible explanation for this difference between the PAs may be related to the more diverse composition of PA from *E. urograndis*, which contains compounds such as 2-acetylfuran, 5-

hexen-3-ol-2,3-dimethyl, and 3-methylcyclopentanone, which are absent in PA from *M. tenuiflora* (Medeiros et al. 2019).

Toxicity studies in animal cells that assess PAs are scarce; however, Chatterjee et al. (2014) evaluated the toxicity of PA from *Oryza sativa* straw and PA from *Quercus* sp. sawdust in Jurkat T cells (a human lymphoma cell line) and HepG2 cells (a human hepatoma cell line). They observed a decrease in cell viability in both cell types and an increase in apoptosis. These observations may be associated with the presence of certain compounds in these PAs that are known for their acute toxicity and animal ecotoxicity, including furfural, furfuryl alcohol, and dihydro-2(3H)-furanone, which are all chemical substances that have been classified as furans. In the study reported by Medeiros et al. (2019), the PA from *E. urograndis* contained higher amounts of components that were classified as furans compared to the levels observed in PA from *M. tenuiflora*, which might be responsible for the observed decrease in metabolic activity of the mitochondria. In this context, more studies should be performed to determine the specific fractions of the PAs to allow them to be more effectively used as antiseptics. Araújo et al. (2018) used extract conditions similar to those used in our current study and found that treatments with PA from *E. urograndis* and PA from *M. tenuiflora* at concentrations of 20% inhibited *E. coli* and *S. aureus*, respectively. However, an inhibition of *S. aureus* at concentrations below 20% in response to both PAs was observed in this study. This higher sensitivity for *S. aureus* is likely due to lysis of the membrane components in the gram-positive bacterial cell that are caused by the synergistic effects of the PA compounds (Mattos et al. 2019). This is different from the observations by Jankowsky et al. (2018), who found that in isolation, the methanolic fraction of the PA from bamboo (*Dendrocalamus asper*) was inefficient for the inhibition of *S. aureus*. This methanolic fraction primarily includes phenolic compounds (guaiacol and vanillin), ketones, aldehydes, and lactones. Additionally, PA from *E. urograndis* and PA from *M. tenuiflora* also caused inhibition halos in *P. aeruginosa* (Araújo et al. 2018), and these halos were similar to those found in this study.

This antimicrobial action of PAs may be influenced by the presence of phenolic compounds that mostly exist as simple phenols, such as phenol, cresols, and 1,2-benzenediol (Oramahi et al. 2018). The antimicrobial effects of these phenolic compounds are primarily due to the chemical structure of these phenols, which allows them to act as proton exchangers that can decrease the pH gradient across the cytoplasmic membrane, ultimately causing microbial cell death (Pisoschi et al. 2018).

Additionally, the antimicrobial actions exhibited by the PAs in this study may also be associated with acetic acid. According to Grewal et al. (2018), this organic acid composes approximately 50% of the solution and causes the PAs to exist at a $\text{pH} < 3$. Based on this, the observed pH of 2.3 for PA from *M. tenuiflora* suggests that this PA possesses a higher acetic acid content than that observed in the PA from *E. urograndis*. This may be responsible for the larger inhibition halos observed after treatment with *M. tenuiflora* PA, which is corroborated by a study by Mahmud et al. (2016), who examined the PA from *Ananas comosus* biomass and found that this PA exerted an antimicrobial effect on *E. coli*. Furthermore, they suggested that the presence of organic acids, particularly acetic acid, might influence these effects.

Performance as an antiseptic in dairy goats and interference in bacterial cell count

In both stages of the experiment, PA from *M. tenuiflora* and PA from *E. urograndis* decreased the number of bacterial cells. The improved response elicited from PA from *M. tenuiflora* is likely due to the greater number of phenolic compounds, such as 2-methoxyphenol (guaiacol) and 2,6-dimethoxy-phenol (syringol) in this PA, which are derived from the degradation of lignin that is present in greater quantities in *M. tenuiflora* wood (Medeiros et al. 2019). These phenolic compounds, including 4-ethyl-2-methoxyphenol and 4-propyl-2-methoxyphenols (Mahmud et al. 2016), possess antimicrobial properties, and likely act on the microbiota of the teat to inactivate bacterial enzymes and disrupt cell membranes (Suresh et al. 2020).

In addition to these compounds, other compounds, such as organic acids, aldehydes, furans, and ketones are also present in the PAs produced by the thermal pyrolysis of xylans (Suresh et al. 2019). Of the organic acids, acetic acid stands out for its promotion of cytoplasmic acidification that can affect the energy production of the microorganism (Mattos et al. 2019) and alter bacterial DNA to achieve antimicrobial effects (Chiamenti et al. 2016). Based on this, phenols, esters, and acetic acids are all related to antimicrobial activity (Grewal et al. 2018).

From these observations, it is evident that PAs with a high percentage of acidity, high concentrations of carbonyl compounds, and a low pH exhibit better results as antimicrobials (Mattos et al. 2019; Suresh et al. 2020). These characteristics enable the occurrence of synergistic effects that result in less bacterial resistance compared to that caused by the use of chemicals, such as 2% iodine (Suresh et al. 2019).

The PA influence in the physicochemical parameters

The function of antiseptic solutions that are used after milking is to reduce the contamination and transmission of microorganisms that cause mastitis on the skin of the teats (Gonçalves et al. 2017). PAs possess ketones and aldehydes that are responsible for high viscosity and interfere with PA quality (Faustino et al. 2019). This may affect non-fat solids in milk, although no differences in the values of this parameter were observed over time when using the PA from *M. tenuiflora*. This result is possibly related to the use of PAs after milking, where no contact occurred with goat milk. Additionally, all treatments were below the index recommended by the NI 37 (Brazil 2000), or it might have been due to the nutritional status of the animals (Santos et al. 2019).

The acetic acid present in the PAs is widely used as a solvent (Faustino et al. 2019); however, it did not interfere with the milk fat globules in any of the tested treatments, as the fat content was in accordance with that established by the NI 37 (Brazil 2000). Thus, the increase in the average fat content in the animal milk samples when PA from *E. urograndis* was used may have been due to a higher consumption of forage grasses, thus causing an increase in the average milk fat percentage (Madureira et al. 2017).

Goat milk that is released by the mammary gland is slightly acidic, and it exhibits an increase in acidity over time, even under adequate storage temperatures (Dutra et al. 2014). Although PAs possess weak acid characteristics with a pH ranging from 2.3 to 3.0 (Campos 2007), it is not possible to confirm any interference in the acidity observed in the milk samples from the animals tested in the study. The reported acidity likely occurred due to the production of lactic acid from lactose consumed by bacteria present in the mammary gland (Morão et al. 2018), and these bacteria were likely lactic acid and coliform bacteria (Dutra et al. 2014).

The chemical parameter for lactose was below the standard of the NI 37 (Brazil 2000) in all treatments, suggesting that PA from *M. tenuiflora* and PA from *E. urograndis* did not interfere with the lactose index present in the goat milk samples. These observed indices may be due to the microorganisms that thrive and multiply in the mammary gland (Sá et al. 2018), as some of these bacteria use lactose as a substrate, thus explaining the significant difference between the lactose index for distilled water treatment compared to that observed after treatment with PA from *E. urograndis* (Dutra et al. 2014).

With regard to the freezing point, Alves et al. (2016) stated that it is a physical parameter linked to the concentration of components, such as lactose, present in the milk. Thus, this parameter was influenced by lactose and not by the PAs used, as the levels were below those of the standard established by the NI 37 (Brazil 2000).

For electrical conductivity, all treatments were above the levels established by the legislation, and this represented a possible contamination of the milk that facilitated conductivity. This is supported by the observed correlation ($P < 0.01$; $r = 0.389$) obtained between the colony forming units of PA of *E. urograndis* and this physical parameter (Barros et al. 2019). Additionally, Madureira et al. (2017) suggested that goats promoted the release of cytoplasmic particles into the milk due to intense flaking of the glandular epithelium. These released particles have sizes similar to those of somatic cells (Dutra et al. 2014), and this contributes to the increase in the values of this parameter.

Based on the results obtained from PA from *M. tenuiflora* and PA from *E. urograndis*, their use can be recommended as an alternative antiseptic during post-dipping. Additionally, further studies examining the toxicity of PA from *E. urograndis* should be performed to further assess the reliability of its use. The study also demonstrates that the use of PAs does not interfere with the physicochemical quality of goat milk.

Acknowledgements:

This study was funded by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES). We would like to thank the team from the Department of Agricultural and Forestry Sciences at the Federal Rural University of the Semi-Arid Region (UFERSA) for their technical support.

Compliance with ethical standards:

Conflict of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval: Animal Use Ethics Committee, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Parecer 06/2019.

References

- Alves, AS, Antunes, AEC, Trento, FKHS, Zacarchenco, PB, Ormenese, RCSC and Spadoti, LM (2016) Pasteurised, microfiltered and lactose-hydrolysed skimmed milk with added probiotics: Development and storage stability. *Int. J. Dairy Technol.*, **69**(1), 22-30.
- Araújo, ES, Pimenta, AS, Feijó, FMC, Castro, RVO, Fasciotti, M, Monteiro, TVC e De Lima, KMG (2018) Antibacterial and antifungal activities of pyroligneous acid from wood of *Eucalyptus urograndis* and *Mimosa tenuiflora*. *J. Appl. Microbiol.*, **124**(1), 85-96.
- Arruda, EL, de Andrade, AM, and Júnior, AFD (2017) Produção e ativação do carvão vegetal de três espécies florestais. *Revista Floresta*, **47**(3), 323-332.

Barros, AF, Alves, ESA, da Silva, JM and Santos, TMC (2018) Diagnóstico e etiologia de mastite subclínica em caprinos leiteiros. *Rev. Ciência Agrícola*, **16**, 1-3.

Barros, SL, Santos, NC, Melo, MOP, Nascimento, APS and Silva, VMA (2019) Avaliação dos parâmetros de qualidade dos leites de cabra comercializados em Monteiro-PB. *Rev. Craibeiras de Agroecologia*, **4**(1), 7662.

Brasil (2003) Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003: Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial da União*.

Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. (2000) Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite de cabra. *Diário Oficial da União*.

Campos, AD (2007) Técnicas para produção de extrato pirolenhoso para uso agrícola. Pelotas-RS, Brazil, EMBRAPA (Empresa Brasileira de Agropecuária).

Campos, ÂD (2018) Informação técnica sobre extrato pirolenhoso. Pelotas-RS, Brazil, EMBRAPA (Empresa Brasileira de Agropecuária).

Canal, WD, Carvalho, AMML, Oliveira, AC, Magalhães, MA, Cândido, WL and Fialho, LF (2016) Comportamento térmico e emissão de gases condensáveis e não condensáveis no processo de carbonização da madeira. *Pesq. flor. bras.*, **36**(87), 261-267.

Chatterjee, N, Eom, HJ, Jung, SH, Kim, JS and Choi, J (2014) Toxic potentiality of bio-oils, from biomass pyrolysis, in cultured cells and *Caenorhabditis elegans*. *Environ. Toxicol.*, **29**(12), 1409-1419.

Chiamenti, L, Fratta, LXS, Picoli, SU, Kreutz, OC, Morisso, FDP and Moura, ABD (2016) Ação antibacteriana do licor pirolenhoso sobre coliformes. *Rev. Conhecimento Online*, **2**, 47-54.

Costa, ALP and Silva Junior, ACS (2017) Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*, **7**(2), 45-57.

Dutra, CMC, Svierk, B, Ribeiro, MER, Pinto, AT, Zanela, MB and Schmidt, V (2014) Parâmetros de qualidade do leite de cabra armazenado sob frio. *Arq. Inst. Biol.* **81**(1), 36-42.

Faustino, FC, Santana Júnior, JA, Cerqueira, DA, Ataíde, CH and Cardoso, CR (2019) Avaliação do Potencial Pirolítico dos Resíduos Agroindustriais de Arroz e Milho. *Rev. virtual quim.*, **11**(6), 1882-1893.

Gonçalves, JL, Tomazi, T and dos Santos, MV (2017) Rotina de ordenha eficiente para produção de leite de alta qualidade. *Rev. Acad. Ciênc. Anim.*, **15**(Supl 2), 9-14.

Grewal, A, Abbey, L and Gunupuru, LR (2018) Production, prospects and potential application of pyroligneous acid in agriculture. *J Anal Appl Pyrol*, **135**, 152-159.

Jankowsky, L, de Lira, SP, Tanaka, FAO and Pontes, I (2018) Antimicrobial Activity of the Methanolic Fraction of Bamboo Pyroligneous Liquor. *J. Pharm. Pharmacol*, **6**, 924-934.

Leonêz, CF, Feijó, FMC, Alves, ND, Santos, CS and Matos, TM (2018) Efficacy of the decoction of cashew leaf (*Spondias mombin* L.) as a natural antiseptic in dairy goat matrices. *Afr J Agr Res*, **13**(13), 644-649.

Lima, GG, Mendes, C, de Marchi, G, Vicari, T, Cestari, MM, Gomes, MF, Ramsdorf, WA, Magalhães, WLE, Hansel, FA and Leme, DM (2019) The evaluation of the potential ecotoxicity of pyroligneous acid obtained from fast pyrolysis. *Ecotox Environ Safe*, **180**, 616-623.

Madureira, KM, Gomes, V and de Araújo, WP (2017) Características físico-químicas e celulares do leite de cabras Saanen, Alpina e Toggenburg. *R. bras. Ci. Vet.*, **24**(1), 39-43.

Mahmud, KN, Yahayu, MA, Sarip, SHM, Rizan, NH, Min, CB, Mustafa, NF, Ngadira, S, Ujang, S and Zakaria, ZA (2016) Evaluation on efficiency of pyroligneous acid from palm kernel shell as antifungal and solid pineapple biomass as antibacterial and plant growth promoter. *Sains Malays.*, **45**(10), 1423-1434.

Mattos, C, Veloso, MCC, Romeiro, GA and Folly, E (2019) Biocidal applications trends of bio-oils from pyrolysis: Characterization of several conditions and biomass, a review. *J Anal Appl Pyrol*, **139**, 1-12.

Medeiros, LCDD, Pimenta, AS, Braga, RM, Carnaval, TKDA, Medeiros Neto, PN and Melo, DMDA (2019) Effect of pyrolysis heating rate on the chemical composition of wood vinegar from *Eucalyptus urograndis* and *Mimosa tenuiflora*. *Rev. Árvore*, **43** (4), 1-11.

Mesquita, MOMD, Pinto, TMF and Moreira, RF (2017) Potencial antimicrobiano de extratos e moléculas isolados de plantas da Caatinga: uma revisão. *Rev. Fitos*, **11**(2), 119-249.

Morão, RP, de Almeida, AC, Mourthé, MHF, Marcelo, NA, Maia, PHBB, Gomes, LV, Silva, FEG and De Matos, ASF (2018) Efeito de antisséptico contendo óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia organoides* cham.) Nos tetos de vacas leiteiras e qualidade do leite. *Rev. Unimontes Científica*, **20**(1), 68-82.

Moreira, TS, de Araújo, ALAC, de Menezes, TBB, do Nascimento Filho, KP, de Lima, RL, de Sousa, RR and Costa, FHF (2019) Influence of pyroligneous extract on water quality and productive performance of *Penaeus vannamei*/Influência do extrato pirolenhoso na qualidade de água e no desempenho produtivo de *Penaeus vannamei*. *Braz. J. of Develop*, **5**(12), 33471-33487.

Oramahi, HA, Yoshimura, T, Diba, F and Setyawati, D (2018) Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from oil palm trunk. *J Wood Sci*, **64**(3), 311-317.

Pimenta, AS, Bayona, JM, García, MT and Solanas, AM (2000) Evaluation of acute toxicity and genotoxicity of liquid products from *Eucalyptus grandis* wood pyrolysis. *Arch Environ Contam Toxicol* **38**, 169-175.

Pimenta, AS, Fasciotti, M, Monteiro, TV and Lima, KM (2018) Chemical composition of pyroligneous acid obtained from *Eucalyptus* GG100 clone. *Molecules*, **23**(2), 426.

Pisoschi, AM, Pop, A, Georgescu, C, Turcuş, V, Olah, NK and Mathe, E (2018) An overview of natural antimicrobials role in food. *Eur. J. Med. Chem*, **143**, 922-935.

Porto, FGS, Campos, ÂD and Garcia, ITS (2019) Distilled pyroligneous liquor obtained from *Eucalyptus grandis* and chitosan: physicochemical properties of the solution and films. *Environ Sci Pollut Res*. **26**, 672–683. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3590-x>.

Ramos, MLNS, Carregosa, ISC, Carvalho, MP, da Costa, MT, Gagliardi, PR and Wisniewski Jr, A (2020) Potential of cattle manure pyrolysis liquid as an alternative environmentally friendly source of agricultural fungicides. *J Anal Appl Pyrol*, **149**, 104862.

Sá, JPN, de Figueiredo, CHA, de Sousa Neto, OL, Roberto, SBA, Gadelha, HS and De Alencar, MCB (2018) Os principais microorganismos causadores da mastite bovina e suas consequências na cadeia produtiva de leite. *Rev. Bras de Gest Amb*, **12**(1), 8-20.

Santos Júnior, DDA, Matos, RAT, Melo, DBD, Garino Júnior, F, Simões, SVD and Miranda Neto, EGD (2019) Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de cabras com mastite no sertão e cariri paraibano. *Cienc. Anim. Bras.*, **20**, 1-11.

Santos, JVI, de Lima Junior, AC, Araújo, TGP, Farias, BJP and Lisboa, ACC (2019) Avaliação da qualidade do leite de cabra em uma propriedade no município de Monteiro-Pb. *Rev. Craib de Agro*, **4**(1), 7682.

Santos, RC, Carneiro, ACO, Pimenta, AP, Castro, RV, Marinho, IV, Trugilho, PF, Alves, ICN and Castro, AFNM (2013) Energy potential of species from forest management plan for the Rio Grande do Norte State. *Ciênc Flor* **23**, 493–504.

Schnitzer, JA, Su, MJ, Ventura, MU and Faria, RTD (2015) Doses de extrato pirolenhoso no cultivo de orquídea. *Rev. Ceres*, **62**(1), 101-106.

Silva, CJD, Karsburg, IV, Dias, PC and Arruda, TP (2017) Pyroligneous liquor effect on *in* and *ex vitro* production of *Oeceoclades maculate* (Lindl). Lindl. *Rev. Caatinga*, **30**(4), 947-954.

Souza, JLS, Guimarães, VBS, Campos, AD and Lund, RG (2018) Antimicrobial potential of pyroligneous extracts—a systematic review and technological prospecting. *Braz. J. Microbiol.*, **49**, 128-139.

Souza, PTD, Salles, MGF and Araújo, AAD (2012) Impacto do estresse térmico sobre a fisiologia, reprodução e produção de caprinos. *Ciênc Rural*, **42**(10), 1888-1895.

Suresh, G, Pakdel, H, Rouissi, T, Brar, SK, Diarra, M and Roy, C (2020) Evaluation of pyroligneous acid as a therapeutic agent against *Salmonella* in a simulated gastrointestinal tract of poultry. *Braz J Microbiol*: [publication of the Brazilian Society for Microbiology].

Suresh, G, Pakdel, H, Rouissi, T, Brar, SK, Fliss, I and Roy, C (2019) *In vitro* evaluation of antimicrobial efficacy of pyroligneous acid from softwood mixture. *Biotechnol. Res. Innov.*, **3**(1), 47-53.

Trindade, RCP, Palmeira, LH, Costa, APA and Amorim, EPR (2015) Eficiência do extrato pirolenhoso sob diferentes concentrações para o controle da *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Bras. de Agroecologia*, **9**(3), 84-89.

Vieira, DS, Peixoto, RM, Costa, MM, Freire, DP, Silva, TMG and Silva, TMS (2018) Atividade antimicrobiana in vitro do extrato etanólico bruto da folha da *Hymenaea martiana* Hayne frente às *Staphylococcus* spp. e avaliação de seu potencial como desinfetante em cabras. *Pesq. Vet. Bras.*, **38**(3), 462-469.

Wang, H, Wang, JL, Wang, C, Zhang, WM, Liu, JX and Dai, B (2012) Effect of bamboo vinegar as an antibiotic alternative on growth performance and fecal bacterial communities of weaned piglets. *Livest. Sci*, **144**(1-2), 173-180.

SUPPORT MATERIAL

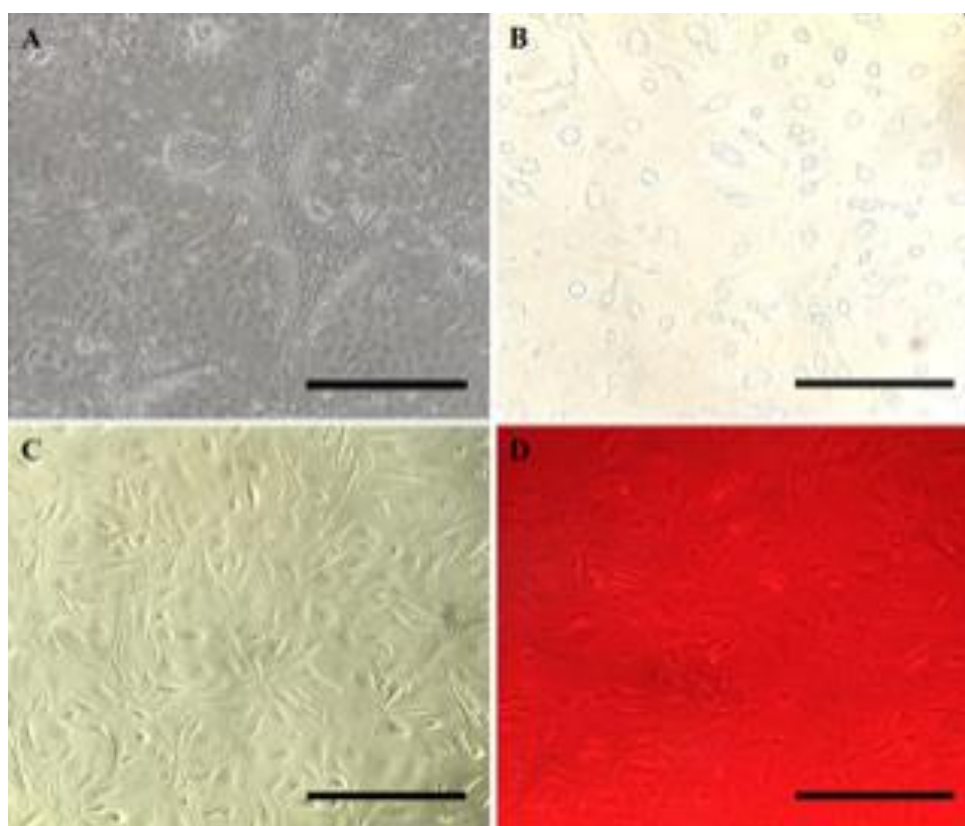


Figure 1 Morphological analysis of cells obtained from the caprine teat region exposed to PA of *Mimosa tenuiflora*, PA of *Eucalyptus urograndis*, and 2% iodine. Cells exposed to A) Negative control, B) 20% PA of *Mimosa tenuiflora*, C) 20% PA of *Eucalyptus urograndis*, and D) 2% iodine solution, 40x

Table 1 Viability and metabolic activity of goat cells cultured *in vitro* after 10 min of incubation with 20% PA of *Jurema preta* (*M. tenuiflora*) and 20% PA of *Eucalyptus* (*E. urograndis*) and 2% iodine.

Groups	Cell viability (%)	Value-P in relation to control	Metabolic Activity (%)	Value-P in relation to control
Negative control (CN0)	85.4 ± 9.39 a		100.0 ± 3.4 a	

PA of <i>M. tenuiflora</i> at 20% (JP20)	50.0 ± 16.9 a	0.2006	32.9 ± 0.6 b	0.0004
PA of <i>E. urograndis</i> at 20% (E20)	57.6 ± 4.9 a	0.1504	31.8 ± 0.4 c	0.0004
2% iodine solution (I2)	88.6 ± 5.3 a	0.8493	47.6 ± 1.3 b	0.0007

In each column, the averages followed by the same letters are statistically equal by the Tukey test at the 5% level. a, b: $P < 0,05$. a, b, c: $P < 0,05$. %, percentage; p, probability.

Table 2 Diameter of the PA's inhibition halos of *M. tenuiflora* and *E. urograndis* in the growth of microorganisms

Microorganism	Diameter of inhibition halos (mm)					
	Concentration of the <i>M. tenuiflora</i> PA (%)			Concentration of the <i>E. urograndis</i> PA (%)		
	20	15	10	20	15	10
<i>Escherichia coli</i>	11.6 ± 2.08	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	10.0 ± 2.64	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.5 ± 0.5	12.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	10.7 ± 0.57	9.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.7 ± 2.08	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	7.7 ± 0.57	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

%, percentage; mm, millimetre

Table 3 Average colony forming units (Log_{10} CFU/cm²) of bacteria from the caprine mammary gland for 20% PA of *M. tenuiflora*, 2% iodine, and sterile distilled water

Treatments	Time (days)				
	7	14	21	28	X
20% PA <i>M. tenuiflora</i>	2.30 Aa	1.32 Ab	2.29 Ab	1.55 Ab	1.87 b

2% iodine	1.20 Aa	0.00 Ab	0.00 Ac	0.00 Ac	0.29 c
Sterile distilled water	2.04 Aa	3.71 Ba	3.83 Ba	3.69 Ba	3.31 a

Averages followed by the same lowercase letter in the column and uppercase in the line do not differ by the Tukey test at the 5% probability level. %, percentage; X, average.

Table 4 Average of colony forming units (Log_{10} CFU/cm²) of bacteria from the caprine mammary gland for 20% PA of *E. urograndis*, 2% iodine, and sterile distilled water

Treatments	Time (days)				
	7	14	21	28	X
20% PA <i>E. urograndis</i>	2.66 Aba	2.22 ABb	1.43 Bb	3.18 Aa	2.38 b
2% iodine	2.49 Aa	0.00 Bc	1.89 Ab	0.00 Bb	1.09 c
Distilled water	2.81 Ba	4.83 Aa	5.04 Aa	4.36 ABa	4.26 a

Averages followed by the same lowercase letter in the column and uppercase in the line do not differ by the Tukey test at the 5% probability level. %, Percentage; X, average.

Table 5 Average values of the physical-chemical parameters of the obtained goat milk, analysed in relation to 20% PA of *M. tenuiflora*, 2% iodine, and sterile distilled

Treatment	Physical-chemical parameter					
	F					Original content
	7 days	14 days	21 days	28 days	TA*	
20% PA of <i>M. tenuiflora</i>	3.70 aA	3.99 aA	3.76 aA	3.71 Aa	3.79 A	Original content
2% iodine	3.46 aA	3.91 aA	3.86 aA	4.25 Aa	3.87 A	
Distilled water	3.09 aA	3.80 aA	3.65 aA	3.82 aA	3.59 A	
WA	3.42 a	3.90 a	3.76 a	3.93 a		
Treatment	E					Minimum of 8.20
	7 days	14 days	21 days	28 days	TA*	
	P					
20% PA of <i>M. tenuiflora</i>	7.23 aA	7.16 aA	7.12 aA	6.98 Aa	7.12 A	Minimum of 8.20
2% iodine	6.76 aA	6.80 aA	6.89 aA	6.93 Aa	6.85 A	
Distilled water	7.16 aA	7.10 aA	6.99 aA	6.90 aA	7.04 A	
WA	7.05 a	7.02 a	7.00 a	6.93 a		

20% PA of <i>M. tenuiflora</i>	2.96 aA	2.94 aA	2.93 aA	2.87 aA	2.93 A	Minimum of 2.8
2% iodine	2.79 aA	2.81 aA	2.84 aA	2.86 aA	2.83 A	
Distilled water	2.93 aA	2.92 aA	2.88 aA	2.85 aA	2.89 A	
WA	2.90 a	2.89 a	2.88 a	2.86 a		
	FC					
20% PA of <i>M. tenuiflora</i>	-0.200 aA	-0.200 aA	-0.200 aA	-0.460 aA	-0.265A	-0.550 a - 0.585
2% iodine	0.000 aB	0.000 aB	0.000 aB	-0.460 aA	-0.115A	
Distilled water	0.000 aB	0.000 aB	0.000 aB	-0.456 aA	-0.114A	
WA	-0.067 a	-0.067 a	-0.067 a	-0.459 b		
	L					
20% PA of <i>M. tenuiflora</i>	3.73 aA	3.69 aA	3.67 aA	3.59 aA	3.67 A	Minimum of 4.3
2% iodine	3.48 aA	3.49 aA	3.54 aA	3.56 aA	3.52 A	
Distilled water	3.70 aA	3.66 aA	3.60 aA	3.54 aA	3.63 A	
WA	3.64 a	3.62 a	3.61 a	3.56 a		
	Z					
20% PA of <i>M. tenuiflora</i>	5.97 aA	5.85 Aa	6.20 aA	6.13 aA	6.04 A	SR
2% iodine	6.18 aA	6.09 aA	6.38 aA	6.36 aA	6.25 A	
Distilled water	5.90 aA	5.90 aA	6.44 aA	6.31 aA	6.14 A	
WA	6.02 ab	5.95 b	6.34 a	6.27 ab		
	pH					
20% PA of <i>M. tenuiflora</i>	5.48 aA	5.47 aA	5.48 aA	5.48 aA	5.48 A	SR
2% iodine	5.47 aA	5.48 aA	5.47 aA	5.48 aA	5.48 A	
Distilled water	5.48 aA	5.48 aA	5.47 aA	5.48 aA	5.48 A	
WA	5.48 a	5.48 a	5.47 a	5.48 a		

Averages followed by the same lowercase letter in the column and uppercase in the line do not differ by the Tukey test at the 5% probability level. % Percentage.

* TA, Treatments average; WA, Weekly average; ** RV, Reference value according to the Normative instruction (NI) n° 37 of October 31, 2000; *** SR, No reference value.

Fat (F); solid not fat (E); protein (P); freezing point (FC); lactose (L); electrical conductivity (Z); and (pH) hydrogen potential.

Table 6 Average values of the physical-chemical parameters analysed in relation to 20% PA of *E. urograndis*, 2% iodine, and sterile distilled water from the obtained goat's milk

	Physical-chemical parameter					
	F					
Treatment	7 days	14 days	21 days	28 days	TA*	RV**
20% PA of <i>E. urograndis</i>	2.90 aA	2.88 aA	3.37 aA	3.86 aA	3.25 A	Original content
2% iodine	2.24 aA	2.41 aA	2.50 aA	2.85 bA	2.50 B	
Distilled water	1.91 aB	2.27 aAB	3.13 aA	2.73 bAB	2.51 B	
WA	2.35 b	2.52 ab	3.12 a	3.03 ab		
	E					
20% PA of <i>E. urograndis</i>	7.94 aA	7.38 aB	7.54 aAB	7.08 aB	7.49AB	Minimum of 8.20
2% iodine	7.81 bA	7.59 aAB	7.56 aAB	7.11 aB	7.52 A	
Distilled water	7.43 abA	7.29 aA	7.35 aA	6.96 aA	7.26 B	
WA	7.73 a	7.42 b	7.48 ab	7.05 c		
	P					
20% PA of <i>E. urograndis</i>	3.22 aA	3.01 aB	3.08 aAB	3.91 aB	3.05 A	Minimum of 2.8
2% iodine	3.17 abA	3.08 aAB	3.08 aAB	2.91 aB	3.06 A	
Distilled water	3.02 bA	2.97 aA	3.00 aA	2.86 aA	2.96 B	
WA	3.13 a	3.02 b	3.05 ab	2.89 c		
	FC					
20% PA of <i>E. urograndis</i>	-0.600aA	-0.600aA	-0.600aA	0.000 aA	-0.450B	-0.550 - -0.585
2% iodine	-0.800 aB	-0.400aB	-0.200aB	0.000 aA	-0.350B	
Distilled water	-0.200aA	-0.200aA	0.000 aA	0.000 aA	-0.100A	
WA	-0.533 b	-0.400 b	-0.267 ab	0.000 a		
	L					
20% PA of <i>E. urograndis</i>	4.14 aA	3.83 aB	3.92 aAB	3.65 aB	3.88AB	Minimum

<i>urograndis</i>	of 4.3				
2% iodine	4.08 abA	3.95 aAB	3.93 aAB	3.69 aB	3.91 A
Distilled water	3.87 bA	3.78 aA	3.81 aA	3.60 aA	3.77 B
WA	4.03 a	3.85 b	3.88 ab	3.65 c	
	Z				
20% PA of <i>E. urograndis</i>	5.83 bB	6.39 abA	6.58 abA	6.49 aA	6.32 B
2% iodine	6.13 bA	6.31 bA	6.41 bA	6.33 aA	6.30 B SR
Distilled water	6.64 aA	6.82 aA	7.01 aA	6.81 aA	6.82 A
WA	6.20 b	6.51 ab	6.66 a	6.54 a	
	pH				
20% PA of <i>E. urograndis</i>	5.48 aA	5.49 cA	5.46 aB	5.46 cB	5.47 A
2% iodine	5.47 bC	5.47 aC	5.46 aB	5.49 aA	5.47 A SR
Distilled water	5.47 bA	5.48 bA	5.46 aB	5.48 bA	5.47 A
WA	5.47 b	5.48 a	5.46 c	5.48 a	

Averages followed by the same lowercase letter in the column and uppercase in the line do not differ by the Tukey test at the 5% probability level. %, Percentage.

* TA – Treatments average; WA – Weekly average; ** RV - Reference value according to the Normative instruction (NI) n° 37 of October 31, 2000; *** SR, No reference value.

Fat (F); solid not fat (SNF); protein (P); freezing point (FC); lactose (L); electrical conductivity (Z); and (pH) hydrogen potential.

5 CONCLUSÃO

Tendo em vista a cadeia produtora de leite, e os desafios da mesma. Possíveis soluções e o aprimoramento de técnicas, produtos e metodologias se faz cada vez mais necessários. No que tange o processo de antissepsia dos tetos, o trabalho se demonstrou promissor ao se utilizar um subproduto com impacto ambiental negativo em animais de produção.

Dessa forma, comprovou-se que extrato pirolenhoso é uma alternativa aos antisséptico convencionais, ressaltando o extrato de *Mimosa tenuiflora* que apresentou melhores resultados que o extrato de *Eucalyptus urograndis*, no teste *in vitro*, citotóxico e *in vivo*, sendo uma possibilidade como antisséptico no pós-dipping de cabras leiteiras. Além disso, é um subproduto de fácil uso e custo acessível.

Portanto, extratos pirolenhosos podem ser possíveis alternativas como agente antimicrobiano.

ANEXOS

ANEXO 1 – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Mossoró, 27 de março de 2019.

PARECER 06/2019

O projeto intitulado "Extratos pirolenhosos de Mimosa Tenuiflora e Eucalyptus sp. no Pós-Dipping de cabras leiteiras", sob responsabilidade de Francisco Marlon Carneiro Feijó, o qual envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da lei 11.794 de 8 de outubro de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido –UFERSA em reunião no dia 26 de março de 2019.

Vigência do projeto	Abril a setembro de 2019
Espécie/linhagem	Capra aegagrus hircus
N. de Animais	200
Peso/idade	Adultos
Sexo	Fêmeas
Origem	Assentamentos rurais em Mossoró/RN

Emanuelle Fontenele Rabelo
Emanuelle Fontenele Rabelo

Presidente CEUA-UFERSA