REVESTIMENTOS POLIMÉRICOS A BASE DE TANINO COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

[1]* Araujo, S.B., [1]** Pierim, A.P. [2]* Clereci, N.J., [3]* Weyh, T.S., [2]** Brandelli, A., [3]** Siqueira, F.M., [1]*** Ferreira, C.A.

[1]Programa de Pós Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGE3M), Laboratório de Materiais Poliméricos (LAPOL), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. Email: *stela.braga@ufrgs.br, **pierimkarol@gmail.com , ***ferreira.carlos@ufrgs.br

[2] Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil Email: *naiaraj.clerici@gmail.com, ** abrand@ufrgs.br

[3] Laboratório de Bacteriologia Veterinária (LaBacVet), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil Email :* tainarasoares017@gmail.com , ** franmaboni@gmail.com

Este estudo avaliou revestimentos poliméricos com diferentes concentrações de tanino quanto à atividade antimicrobiana e às propriedades físico-químicas. O tanino, extraído da casca de acácia negra, foi caracterizado por Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e demonstrou atividade antimicrobiana satisfatória contra bactérias gram-positivas testadas. Revestimentos foram preparados com diferentes concentrações de tanino em resina epóxi base solvente e resina acrílica base água. A atividade antimicrobiana foi testada em bactérias gram-positivas e gram-negativas por meio de ensaios de inibição de zona em placas de ágar. Além disso, testes de adesão Pull-off e ângulo de contato foram realizados. A adição de 25% de tanino tornou as formulações mais hidrofílicas e alterou a tensão de arrancamento. A atividade antimicrobiana foi eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa* em revestimentos com 25% de tanino em ambas as resinas e 10% em resina acrílica, enquanto para *Staphylococcus aureus*, apenas o revestimento acrílico com 25% mostrou efeito antimicrobiano.

Palavras-chave: Tanino condensado, revestimento antimicrobiano, bactéria

INTRODUÇÃO

O surgimento de novas doenças infecciosas representa um desafio significativo para a saúde pública global, particularmente com mutações em cepas bacterianas resistentes aos antibióticos atuais. Esta é uma forte motivação na busca por novos agentes antibacterianos com estabilidade melhorada e amplos espectros inibitórios contra bactérias multirresistentes (1).

As células bacterianas preferem se fixar e crescer em superfícies formando biofilmes, que são mais resistentes e os tratamentos antimicrobianos tradicionais podem não ser eficientes (2)(3). Por isso a utilização de revestimentos antimicrobianos ou repelentes de patógenos são altamente desejáveis para reduzir a geração de superfícies contaminadas e proliferação de doenças (4).

O uso de agentes biocidas em revestimentos poliméricos podem atuar para reduzir a contaminação de microrganismos patogênicos (5). Uma das maiores tendências do mercado é a busca por aditivos microbicidas que: (a) apresentem um amplo espectro de atividade antimicrobiana; (b) não representem risco para a saúde humana; (c) sejam ecologicamente corretos e econômicos, desta forma compostos naturais de origem vegetal ricos em polifenóis, fenóis selecionados, naftoquinonas, triterpenoides e fitoncidas são uma das alternativas (6)(7).

Os taninos, especialmente os taninos condensados, apresentam forte potencial como aditivos biocidas para revestimentos devido às suas propriedades antioxidantes e antibacterianas, apresentando viabilidade como aditivos biocidas sustentáveis e eficazes em diversas aplicações (8).

Diante da necessidade de novos materiais biocidas, utilizamos o tanino condensado oriundo da casca de Acácia Negra (*Acacia mearnsii*) como aditivo para acrescentar a atividade bactericida em revestimentos poliméricos. A Acácia Negra apresenta características multifuncionais, sendo cultivada para a obtenção de tanino, celulose e energia principalmente no sul do Brasil (9). Foram preparadas formulações com de diferentes teores de tanino em resina epóxi base solvente e resina acrílica base água. Os revestimentos foram caracterizados físico-quimicamente com análise

de aderência via *Pull-off* e o grau de molhabilidade por ângulo de contato e também verificado a presença ou não de atividade antibacteriana.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Tanino em pó

a. Caracterização química

A amostra do tanino em pó (Tanac, Montenegro, Brasil), é um tanino condensado oriundo da casca da Acácia Negra. As propriedades químicas foram investigadas por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), utilizando um Perkin Elmer Spectrum IR versão 10.7.2. Os espectros foram obtidos pelo método μATR na região entre 4000 e 400 cm^{-1}, com 8 varreduras e uma resolução de 4 cm^{-1}.

b. Teste de atividade antibacteriana do tanino em pó

Para determinação da atividade antimicrobiana foi utilizando o ensaio de inibição de zona em placas ágar (10)(11). Foi definido o volume de 10μL de solução de tanino a 0,1 $g.mL^{-1}$ sobre placas ágar Brain Heart Infusion (BHI, Oxoid,Basingstoke,UK) previamente inoculada suspensões de 108 UFC/mL de *Staphylococcus aureus* ATCC1901 e *Bacillus cereus* ATCC9634, que foram espalhados sobre as placas BHI com swabs estéreis. A atividade antimicrobiana foi evidenciada pela presença de zonas claras (sem crescimento ou sobrevivência de microrganismos) ao redor das amostras. Os antibióticos comerciais ciprofloxacina (CIP) e ampicilina (AMP) foram utilizados como controles positivos, servindo como padrões antimicrobianos. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C e o ensaio foi realizado em duplicata.

O tamanho da zona de inibição foi medido com régua e suas medidas foram avaliadas estatisticamente por média ± desvio padrão.

2. Formulação das tintas

As tintas foram formuladas utilizando resina Epóxi monocomponente base solvente (Araldite GZ 488N40), e resina acrílica base água (Acronal BS700). As formulações propostas foram com teores de 10% e 25% de sólidos totais de tanino,

tanto na resina Epóxi quanto para resina Acrílica. O aditivo foi incorporado a resina com o auxílio de um dispersor WMA-GETZMANN GMBH marca DISPERMAT N1, sob agitação de 6.000 RPM durante 20 minutos.

3. Preparação dos corpos de prova:

Para análises de caracterização dos revestimentos tivemos que preparar corpos de prova em diferentes substratos (chapas de aço 1020, lâminas de vidro e placas de PVC). Todos os substratos foram previamente preparados e higienizados. Cada tinta foi aplicada sobre os substratos utilizando um extensor metálico com abertura de 150 µm para controle da espessura dos filmes e em seguida secos em estufa a 40°C por 72 horas para total evaporação do solvente.

4. Caracterização dos revestimentos

a. Pull -off

Para análise de *Pull-off* foram os corpos de prova que consistiram em placas de Aço 1020, de dimensões 25x30x 1,2 cm preparada conforme o item 3. Foram utilizadas dollies de 10 mm de diâmetro, coladas nos revestimentos com cola Araldite Profissional e após de 24horas da secagem da cola foi realizado o ensaio conforme a norma ASTM D4541. Utilizando com o equipamento PosiTest At-A (Automático) – Defelsko e velocidade de arrancamento de 1,0 Mpa/s, o ensaio foi realizado em duplicata.

b. Ângulo de contato

Para realização do ensaio de ângulo de contato, as amostras foram os corpos de prova de substrato de lâminas de vidro 2 x 2 cm mencionados no item 3.Conforme ASTM 7490, utilizando o analisador de ângulo de contato Phoenix Mini, modelo P10001 e o programa Surftens, foram realizadas 3 medidas de ângulo de contato por amostra.

c. Avaliação da atividade antimicrobiana dos revestimentos

As amostras para teste bacteriológico encontravam-se na forma de filmes secos, retirados dos corpos de prova de substrato de PVC, os quais posteriormente foram submetidos a esterilização por luz ultravioleta (UV). A atividade antimicrobiana foi realizada utilizando o ensaio de zona de inibição em placas ágar (10)(11). A amostra dos revestimentos foi definida como quadrados sobre placas ágar Brain Heart

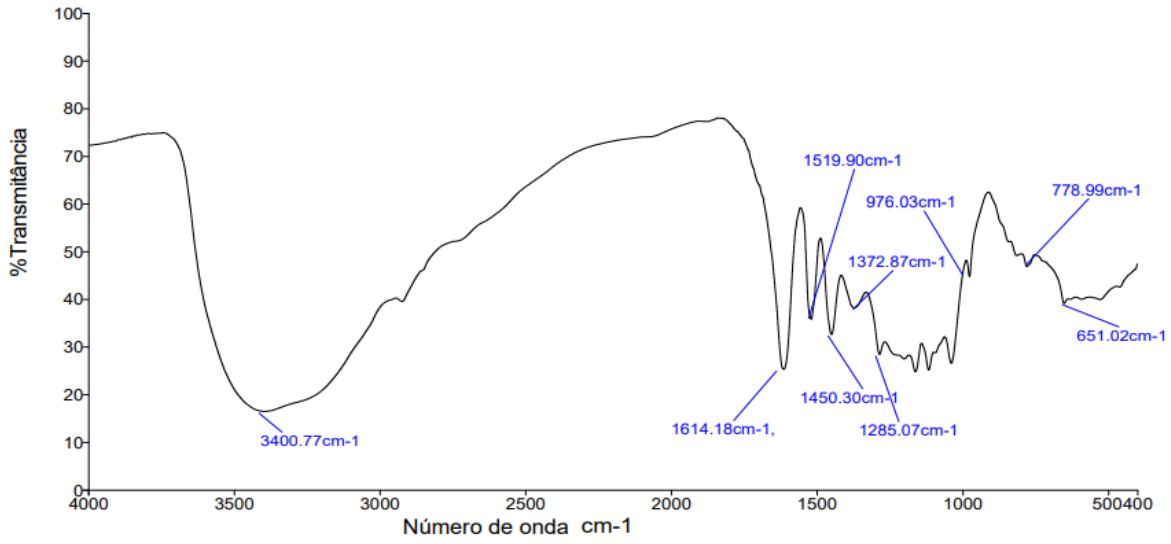
Infusion (BHO,Oxoid,Basingstoke,UK) previamente inoculada suspensões de 10^8 UFC/mL de *Staphylococcus aureus* ATCC1901, *Bacillus cereus* ATCC9634, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC15442 e *Escherichia coli* ATCC8739, que foram espalhados sobre as placas BHI com *swabs* estéreis. A atividade antimicrobiana foi evidenciada pela presença de zonas claras (sem crescimento ou sobrevivência de microrganismos) ao redor das amostras. Os antibióticos comerciais foram utilizados como controles positivos, servindo como padrões antimicrobianos. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C e o ensaio foi realizado em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espectroscopia FTIR foi considerada um método analítico eficaz e sensível para caracterizar os taninos. As bandas de absorção no espectro FTIR fornecem informações sobre os grupos funcionais presentes na amostra (12).

No espectro de FTIR (figura 1) foram observadas bandas características que indicam a presença de grupos hidroxila (3400 cm^{-1}), grupos metileno (1450 cm^{-1}) e metila (1372 cm^{-1}). As bandas em 1614 cm^{-1}e 1519 cm^{-1} correspondem às vibrações de estiramento das ligações C=C em anéis aromáticos. A banda em 1285 cm^{-1} é relacionada às vibrações de estiramento C-O de compostos fenólicos. Os picos discretos em 976 cm^{-1}, 778 cm^{-1} e 651 cm^{-1} são atribuídos às vibrações de deformação fora do plano dos anéis aromáticos (13,14,15).

Figura 1: Espectro de FTIR do tanino em pó



Foram observadas zonas de inibição no teste bacteriológico para *S. aureus.* Já na placa de *B. cereus* houve a difusão do tanino na placa dificultando a visibilidade de halo (Figuras 2A e 2B respectivamente). O tamanhos do halo de inibição foi analisado com média ± desvio padrão, exibido na tabela 1.

Figura 2: Placas dos testes bacteriológicos da solução de tanino 0,1 g.mL^{-1} para *S. aureus* (A) e para *B.cereus* (B).

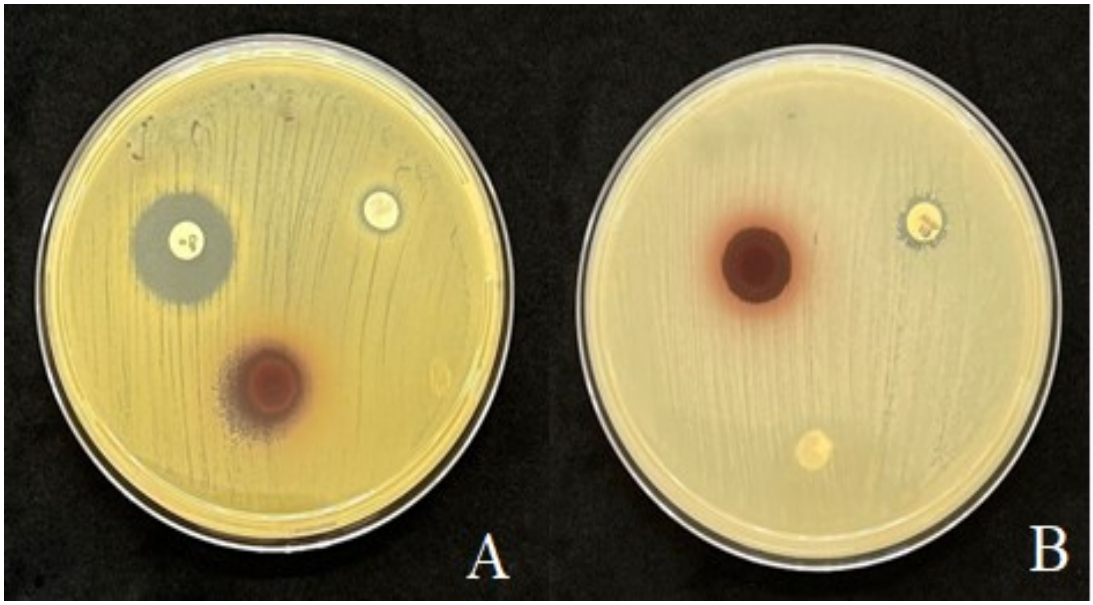


Tabela 1: Tamanho da zona de inibição com a amostra solução de tanino 0,1 g.mL^{-1}. Resultados expressos em média ± desvio padrão.

Microorganismo	Antibiótico (controle positvo)	Diâmetro do halo de inibição (mm)	
		Controle positivo	Tanino
Staphylococcus aureus	Ciprofloxacina (CIP)	22,50 ± 4,95	16,50 ± 2,12

As espécies de microrganismos mais estudadas para avaliar a inibição de crescimento por meio de extratos tânicos foram as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* e a levedura *Candida albicans* por serem microrganismos de alta relevância de saúde pública devido a sua disseminação (16). O tanino possui uma resposta biocida mais significativa quando não está encapsulado (17).

Os taninos fazem parte do grupo dos flavonoides e têm a capacidade de interagir com a membrana citoplasmática, o que pode levar à inibição de suas funções e comprometer a integridade celular, interrompendo assim o metabolismo da célula bacteriana (18).

Por este resultado positivo de atividade antimicrobiana no tanino puro, foi dado segmento a pesquisa encapsulando o mesmo como aditivo nas resinas para verificar a atividade antimicrobiana nos revestimentos, já que as resinas puras não apresentaram efeito biocida.

Os revestimentos foram avaliados quanto a sua aderência e ao seu nível de molhabilidade. Como observado na tabela 2, amostras com adição de 25% de tanino em ambas as resinas sofreram diminuindo no ângulo de contato, conferindo um caráter mais hidrofílico ao revestimento.

Tabela 2: Avaliação das propriedades físico-químicas dos revestimentos. Resultados expressos em média ± desvio padrão.

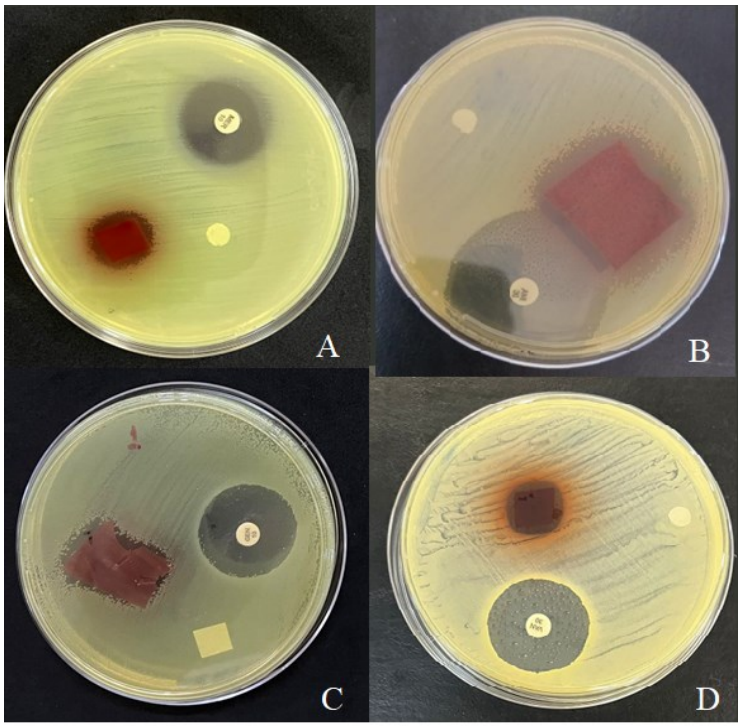
Amostras	Tensão de Arrancamento (Mpa)	Ângulo de contato (°)
Resina Epóxi	5,54 ± 0,70	78,42 ± 1,03
Epóxi +Tanino 10%	6,38 ± 0,10	66,99 ± 2,12
Epóxi + Tanino 25%	4,48 ± 0,49	63,32 ± 2,08
Resina Acronal	7,15 ± 3,16	54,17 ± 14,14
Acronal + Tanino10%	5,39 ± 0,57	52,88 ± 7,72
Acronal + Tanino 25%	3,85 ± 0,45	60,09 ± 2,25

Os grupos funcionais orgânicos nas moléculas de aditivos reduzem a tensão superficial da resina, diminuindo a hidrofobicidade, principalmente em superfícies lisas como o vidro (19). A tensão de arrancamento diminuiu com o aumento do teor de sólidos nas resinas, tornando menos aderente ao substrato metálico do teste *Pull-off*.

Os revestimentos com teor de 25% de tanino em ambas resinas e resina Acronal com 10% de tanino apresentaram inibição positiva contra *P. aureginosa*.

Também foi identificado atividade biocida para o revestimento de resina acrílica Acronal com 25% de tanino para *S. aureus*, conforme mostrado na figura 3.

Figura 3: Placas de ensaios de atividade antimicrobiana: (A) Acronal + 25% de tanino em *P. aureginosa*, (B) Epóxi + 25% de tanino em *P. aureginosa*, (C) Acronal + 10% de tanino em *P. aureginosa* e (D) Acronal + 25% de tanino em *S. aureus.*



Este ensaio teve como objetivo ser uma mensuração qualitativa não podendo mensurar e comparar os resultados entre si, devido a irregularidade no tamanho dos revestimentos ensaiados. Os resultados foram similares para ambos os tipos de bactérias, como averiguados em amostras de folhas de papel lignocelulósica impregnadas com extratos de tanino condensado extraídos da casca industrial de abeto da Noruega (20) e revestimentos de tanino em peças de polipropileno, onde o efeito antibacteriano foi superior conforme o teor do aditivo foi aumentado (21).

CONCLUSÃO

O uso do tanino condensado da casca de Acácia Negra como aditivo para revestimentos poliméricos é uma alternativa natural aos aditivos químicos nocivos para acrescentar caráter antimicrobiano nas resinas sem afetar de maneira significativa características físico-químicas das resinas.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pelas agências brasileiras CNPq, CAPES, FAPERGS e realizado no LAPOL, LABACVET e ICTA da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

REFERÊNCIAS

1. ANDUALEM, W. W. et al. Synthesis of copper oxide nanoparticles using plant leaf extract of *Catha edulis* and its antibacterial activity. *Journal of Nanotechnology*, v. 2020, p. 1–10, 2020. https://doi.org/10.1155/2020/2932434

2. CHEN, Y. et al. Bioinspired superhydrophobic surfaces, inhibiting or promoting microbial contamination? *Materials today (Kidlington, England),* v. 67, p. 468–494, 2023. DOI:10.1016/j.mattod.2023.06.006

3. SAUER, K. et al. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature reviews. Microbiology,* v. 20, n. 10, p. 608–620, 2022. DOI: 10.1038/s41579-022-00767-0

4. ABU JARAD, N. et al. A bifunctional spray coating reduces contamination on surfaces by repelling and killing pathogens. *ACS applied materials & interfaces*, v. 15, n. 12, p. 16253–16265, 2023. DOI: 10.1021/acsami.2c23119

5. Castro, K., & Costa, J. (2021). Polymeric surfaces with biocidal action: challenges imposed by the SARS-CoV-2, technologies employed, and future perspectives. *Journal of Polymer Research*, 28. https://doi.org/10.1007/s10965-021-02548-4.

6. PAWŁOWSKA, A.; STEPCZYŃSKA, M. Natural biocidal compounds of plant origin as biodegradable materials modifiers. *Journal of polymers and the environment*, v. 30, n. 5, p. 1683–1708, 2022 DOI: 10.1007/s10924-021-02315-y

7. PANDA, L.; DUARTE-SIERRA, A. Recent advancements in enhancing antimicrobial activity of plant-derived polyphenols by biochemical means. *Horticulturae*, v. 8, n. 5, p. 401, 2022. **https://doi.org/10.3390/horticulturae8050401**

8. FRAGA-CORRAL, M. et al. Technological application of tannin-based extracts. *Molecules (Basel, Switzerland),* v. 25, n. 3, p. 614, 2020. **https://doi.org/10.3390/molecules25030614**

9. GAZZANA, D. et al. Selection of Acacia mearnsii for mini-cutting propagation. *Ciencia rural*, v. 54, n. 6, 2024. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220081

10. MEIRA, S. M. M. et al. Polypropylene/montmorillonite nanocomposites containing Nisin as antimicrobial food packaging. *Food and bioprocess technology*, v. 7, n. 11, p. 3349–3357, 2014. DOI:10.1007/s11947-014-1335-5

11. ZEHETMEYER, G. et al. Biodegradable and antimicrobial films based on poly(butylene adipate-co-terephthalate) electrospun fibers. *Polymer bulletin (Berlin, Germany)*, v. 74, n. 8, p. 3243–3268, 2017. DOI:10.1007/s00289-016-1896-8

12. RICCI, A. et al. Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy in the characterization of tannins. *Applied spectroscopy reviews*, v. 50, n. 5, p. 407–442, 2015. https://doi.org/10.1080/05704928.2014.1000461

13. XU, Q. et al. Adsorption of Cu (II), Pb (II) and Cr (VI) from aqueous solutions using black wattle tannin-immobilized nanocellulose. *Journal of hazardous materials*, v. 339, p. 91–99, 2017. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2017.06.005

14. GRASEL, F. DOS S.; FERRÃO, M. F.; WOLF, C. R. Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, v. 153, p. 94–101, 2016. DOI:10.1016/j.saa.2015.08.020

15. PERES, R. S.; CASSEL, E.; AZAMBUJA, D. S. Black wattle tannin as steel corrosion inhibitor. *ISRN Corrosion*, v. 2012, p. 1–9, 2012. DOI:10.5402/2012/937920

16. UCELLA-FILHO, J. G. M. et al. Tannin-rich bark extract of plants as a source of antimicrobial bioactive compounds: A bibliometric analysis. *Suid-Afrikaanse tydskrif vir plantkunde [South African journal of botany]*, v. 150, p. 1038–1050, 2022. DOI: 10.1016/j.sajb.2022.09.018

17. DOS SANTOS, C. et al. Structural, textural and morphological characteristics of tannins from *Acacia mearnsii* encapsulated using sol-gel methods: Applications as antimicrobial agents. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, v. 151, p. 26–33, 2017. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.11.041

18. CUSHNIE, T.P.T.; LAMB, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents* 26, 343-356, 2005. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002

19. SAVOTCHENKO, S.; KOVALEVA, E. Experimental study of the influence of the epoxy resin modification with additives on the contact angle. International journal of polymer analysis and characterization, v. 28, n. 2, p. 192–199, 2023. https://doi.org/10.1080/1023666X.2022.2164826

20. JYSKE, T. et al. Inspired by nature: Fiber networks functionalized with tannic acid and condensed tannin-rich extracts of Norway spruce bark show antimicrobial efficacy. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, v. 11, 2023. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1171908

21. WIDSTEN, P. et al. Tannin-based microbicidal coatings for hospital privacy curtains. *Journal of functional biomaterials*, v. 14, n. 4, p. 187, 2023. **https://doi.org/10.3390/jfb14040187**

TANNI-BASED POLYMERIC COATINGS WITH BACTERICIDAL ACTIVITY

This study evaluated polymeric coatings with different tannin concentrations for their antimicrobial activity and physicochemical properties. The tannin, extracted from black wattle bark, was characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and demonstrated satisfactory antimicrobial activity against the tested gram-positive bacteria. Coatings were prepared with varying concentrations of tannin in solvent-based epoxy resin and water-based acrylic resin. Antimicrobial activity was tested on both gram-positive and gram-negative bacteria through agar plate inhibition zone assays. In addition, Pull-off adhesion and contact angle tests were conducted. The addition of 25% tannin made the formulations more hydrophilic and altered the pull-off strength. The antimicrobial activity was effective against *Pseudomonas aeruginosa* in coatings containing 25% tannin in both resins and 10% in acrylic resin, while for *Staphylococcus aureus*, only the acrylic coating with 25% tannin exhibited antimicrobial efficacy.

Keywords: Condensed tannin, antimicrobial coating, bacteria