



# AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE AGENTES PATOGÊNICOS E DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E BACTERIOSTÁTICA DE TANINOS

D'AVILA, F.G.<sup>1</sup>; LIMA, I.S.O.<sup>1</sup>; MELO, B.M.<sup>\*2</sup>; STRAPAZZON, N.<sup>3</sup>; GUEDES, F.F.<sup>\*4</sup>

<sup>1</sup>Aluno(a) do Curso de Química Industrial – Bolsista Voluntário; <sup>2</sup>Aluna egressa do Curso de Química Industrial; <sup>3</sup>Aluna do Curso de Licenciatura em Química – Bolsista Voluntário; <sup>4</sup> Professora e Coordenadora Adjunta do Curso de Química

## INTRODUÇÃO

Os taninos, são polifenóis solúveis em água encontrados em uma grande variedade de frutos, cascas, sementes, folhas, entre outros. Podem ser classificados quimicamente como hidrolisáveis e condensados, sendo importantes compostos oligoméricos com estrutura química variada. Suas propriedades bactericidas e fungicidas resultam da capacidade de interação com macromoléculas, como proteínas e polissacarídeos, e de complexação de íons metálicos, além de sua atividade antioxidante capaz de sequestrar radicais livres. A acácia negra, árvore típica do estado do Rio Grande de Sul, é considerada uma das melhores árvores para a extração de taninos em termos de concentração e rendimento de taninos condensados a partir da sua casca.

## PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Primeiramente todos os microrganismos foram caracterizados bioquimicamente a fim de obter-se cepas puras de cada espécie. O estudo foi realizado a partir de três extratos produzido pela empresa TANAC, sendo estes tanino sulfitado 43,3%, catiônico 31,2% e aniônico 50,2%, foram utilizados no teste de difusão em discos com concentrações de 0,1% à 6,5%, descrito pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), e pelo teste em microplacas com revelador cloreto de trifeniltrazólio (CTT) para *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* a partir da concentrações de 0,1% até a ausência completa do crescimento microbiano.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os testes para caracterização bioquímica dos microrganismos deram positivos, confirmando a pureza das cepas.

Os resultados do teste qualitativo de difusão em discos para as três bactérias foram verificados após 24 horas, 48 horas e 72 horas de incubação das placas inoculadas com os microrganismos e com os filtros impregnados com diferentes soluções a base de tanino. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 1.

Os testes em microplacas de ELISA foram realizados com as mesmas concentrações de diluições utilizadas no teste de difusão em discos. A realização deste teste foi motivada ao verificar a tendência dos resultados obtidos anteriormente. Após 24 horas de incubação das placas de PCA contendo os inóculos das diluições seriadas, foi realizado o cálculo de unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 1: Tabela comparativa dos resultados obtidos no teste de difusão em disco (AUTOR, 2017).

Concentração	Medidas dos diâmetros dos halos de inibição (considerando os maiores valores medidos durante as 72 horas de incubação das placas)								
	SOLUÇÃO 01			SOLUÇÃO 02			SOLUÇÃO 03		
	E	L	S	E	L	S	E	L	S
0,10%	-	-	-	x	x	x	-	-	-
0,15%	-	-	-	x	x	x	-	-	-
0,20%	x	12 mm	x	x	x	x	-	-	-
0,25%	x	12 mm	x	x	x	x	-	-	-
0,30%	x	12 mm	x	x	x	x	x	x	x
0,35%	-	-	-	x	x	x	x	x	x
0,40%	x	12 mm	x	x	x	x	x	x	x
0,45%	-	-	-	x	x	x	x	x	x
0,50%	x	12 mm	x	x	x	x	x	x	x
0,55%	-	-	-	x	x	x	x	x	x
1,00%	x	12 mm	12 mm	x	x	x	x	x	x
1,50%	-	-	-	x	x	x	x	x	x
2,00%	x	12 mm	12 mm	x	x	17 mm	x	x	x
2,50%	x	12 mm	10 mm	x	x	19 mm	x	x	x
3,00%	x	13 mm	11 mm	x	x	19 mm	x	x	x
3,50%	x	13 mm	11 mm	x	x	21 mm	x	x	x
4,00%	x	13 mm	11 mm	x	14 mm	19 mm	x	x	17 mm
4,50%	12 mm	13 mm	11 mm	x	12 mm	19 mm	21 mm	x	17 mm
5,00%	x	13 mm	11 mm	x	15 mm	19 mm	17 mm	x	17 mm
5,50%	x	13 mm	11 mm	x	13 mm	19 mm	20 mm	x	16 mm
6,00%	x	13 mm	11 mm	x	x	19 mm	x	12 mm	14 mm
6,50%	x	13 mm	10 mm	x	x	19 mm	x	12 mm	14 mm

Legenda	
-	Teste não realizado para esta concentração de diluição
x	Ausência de inibição visível
E	<i>Escherichia coli</i>
L	<i>Listeria monocytogenes</i>
S	<i>Staphylococcus aureus</i>

Tabela 2: Tabela comparativa dos resultados obtidos no teste em microplacas (AUTOR, 2017).

Concentração	Resultados da visualização da presença de crescimento bacteriano ou da ausência deste nas placas de PCA utilizadas no teste em microplacas com revelador CTT								
	SOLUÇÃO 01			SOLUÇÃO 02			SOLUÇÃO 03		
	E	L	S	E	L	S	E	L	S
0,10%	✓	✓	-	✓	✓	x	-	-	-
0,15%	✓	✓	-	✓	✓	x	-	-	-
0,20%	x	x	x	✓	✓	x	-	-	-
0,25%	x	✓	x	✓	✓	x	-	-	-
0,30%	x	x	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓
0,35%	-	-	-	✓	✓	✓	✓	✓	✓
0,40%	x	✓	x	✓	✓	✓	✓	✓	✓
0,45%	-	-	-	✓	✓	x	✓	✓	✓
0,50%	x	x	x	✓	✓	x	✓	✓	✓
0,55%	-	-	-	✓	✓	x	✓	✓	✓
1,00%	x	x	x	✓	✓	x	✓	✓	✓
1,50%	-	-	-	✓	x	x	✓	✓	✓
2,00%	x	x	x	✓	x	x	✓	✓	✓
2,50%	x	x	x	✓	x	x	✓	✓	✓
3,00%	x	x	x	✓	x	x	✓	✓	✓
3,50%	x	x	x	✓	x	x	✓	✓	✓
4,00%	x	x	x	✓	✓	x	✓	✓	✓
4,50%	x	x	x	✓	✓	x	✓	✓	✓
5,00%	x	x	x	✓	x	x	✓	✓	✓
5,50%	x	x	x	✓	x	x	✓	✓	✓
6,00%	x	x	x	✓	✓	x	✓	✓	✓
6,50%	x	x	x	✓	✓	x	✓	✓	✓

Legenda	
-	Teste não realizado para esta concentração de diluição
✓	Crescimento de colônias do microrganismo em estudo
✓	Crescimento de colônias oriundas de provável contaminação ou mutação
x	Ausência de crescimento visível
E	<i>Escherichia coli</i>
L	<i>Listeria monocytogenes</i>
S	<i>Staphylococcus aureus</i>

## CONCLUSÕES

A solução de tanino sulfitado foi segunda solução mais eficiente na ação antimicrobiana frente aos microrganismos utilizados no estudo, seguida pela solução de tanino aniônico 50,2%. Para o gram negativo *Escherichia coli*, os resultados não foram tão satisfatórios. Acredita-se que as pequenas variações de resultados apresentados entre os dois testes, deve-se a técnica utilizada, visto que na metodologia de difusão em discos há uma maior concentração de inóculo na placa de PCA enquanto no teste em microplacas, o inóculo interage diretamente com as soluções de tanino.

## REFERÊNCIAS

- HASLAM, E. Plant polyphenols: vegetable tannins revised. Department of Chemistry, University of Sheffield. Cambridge University Press. New York, 1989.  
 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA. Métodos de análise microbiológica para alimentos. 2ª revisão. 1991/1992.  
 GONÇALVES, R.M.F. Estudo da inibição de tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais. Efeito antinutricional de bebidas comuns. Departamento de Química Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Escola de Engenharia da Universidade do Minho. Setembro 2007.