



UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.

Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura

Janáina Theila Pinheiro Meier

**Atividade antibacteriana de curcumina mediada por inativação fotodinâmica e
combinação com conservantes alimentícios**

**Umuarama
2026**

Janáina Theila Pinheiro Meier

**Atividade antibacteriana de curcumina mediada por inativação fotodinâmica e
combinação com conservantes alimentícios**

**Dissertação apresentada como parte
das exigências para a obtenção do
grau de mestre em Biotecnologia
Aplicada à Agricultura pela
Universidade Paranaense -
UNIPAR.**

**Orientador(a): Prof.^a Dra. Suelen
Pereira Ruiz Herrig**

**Umuarama
2026**

Ficha Catalográfica

M511a Meier, Janaína Theila Pinheiro.

Atividade antibacteriana de curcumina mediada por inativação fotodinâmica e combinação com conservantes alimentícios / Janaína Theila Pinheiro Meier. – Umuarama: Universidade Paranaense – UNIPAR, 2026.

33 f.

Orientadora: Dr^a. Suelen Pereira Ruiz Herrig.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense – UNIPAR.

1. Biopreservação. 2. Fotoinativação. 3. Nisina. 4. Nitrito de sódio. 5. *Staphylococcus aureus*. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 584.39

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

**Atividade antibacteriana de curcumina mediada por inativação fotodinâmica e
combinação com conservantes alimentícios**

Dissertação aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Doutor ou Mestre no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

Prof.^a Dra. Beatriz Cervejeira Bolanho Barros

Universidade Estadual de Maringá – UEM

Prof. Dr. Thiago Alberto Ortiz

Universidade Paranaense – UNIPAR – Umuarama

Prof.^a Dra. Suelen Pereira Ruiz Herrig

Universidade Paranaense – UNIPAR – Umuarama

Universidade Paranaense – UNIPAR

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer em cada etapa desta caminhada e por iluminar meu caminho mesmo nos dias mais desafiadores.

Aos meus familiares, pelo amor, incentivo incondicional e por compreenderem minhas ausências quando a pesquisa exigiu mais tempo, energia e entrega. Sem vocês, este trabalho não teria encontrado sustentação.

Ao meu esposo, que em meio ao cansaço da rotina não mediu esforços para me incentivar, cuidando dos pequenos detalhes que muitas vezes eu esquecia, como um copo de água, uma xícara de café ou um gesto silencioso de carinho. Sua presença tornou meu caminho mais leve, humano e possível.

Aos colegas e amigos que compartilharam aprendizado, conversas, dúvidas, trocas científicas e também os momentos de leveza que tornaram o percurso mais leve. Cada contribuição, por menor que pareça, ajudou a construir este resultado.

À minha orientadora Suelen Pereira Ruiz Herrig, pela confiança, paciência, conhecimento e por acreditar no potencial deste estudo. Suas orientações e direcionamentos foram essenciais para a evolução acadêmica e para o amadurecimento científico que hoje carrego comigo.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte desta trajetória, meu sincero e profundo agradecimento.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	09
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 MATERIAIS	12
2.2 Atividade antibacteriana	13
2.2.1 Microrganismo	13
2.2.2 Preparo e padronização do inóculo	13
2.2.3 Atividade antibacteriana pelo método de microdiluição em caldo	13
2.2.4 Fotoinativação de <i>S. aureus</i> usando curcumina	14
2.2.5 Ensaio de interação Curcumina x Aditivos Alimentares (Checkerboard)	15
2.3 Análise estatística	16
3. RESULTADOS	16
3.1 Atividade antibacteriana de curcumina e aditivos alimentares	16
3.2 Atividade antibacteriana de curcumina sob fotoinativação em <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3.3 Avaliação das combinações curcumina, nisina e curcumina, nitrito de sódio sob condições com e sem fotoinativação	21
4. DISCUSSÃO	24
5. CONCLUSÕES	29
6. AGRADECIMENTOS	30
7. REFERÊNCIAS	31

Janaína Theila Pinheiro Meier

Atividade antibacteriana de curcumina mediada por inativação fotodinâmica e combinação com conservantes alimentícios

RESUMO: A segurança microbiológica dos alimentos permanece como um desafio global, impulsionando a busca por alternativas naturais e eficazes aos conservantes convencionais. Nesse contexto, a curcumina, um polifenol natural extraído de *Curcuma longa*, tem se destacado devido às suas propriedades antimicrobianas. Adicionalmente, apresenta potencial como fotossensibilizador em processos de inativação fotodinâmica antimicrobiana mediada por luz visível, promovendo a geração de espécies reativas de oxigênio capazes de causar danos às estruturas celulares microbianas. Além disso, a associação da curcumina com aditivos alimentares pode potencializar sua atividade e permitir a redução das concentrações aplicadas, contribuindo para estratégias mais seguras de conservação de alimentos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana da curcumina isolada, seu efeito sob fotoinativação e o potencial sinérgico em combinação com nisina e nitrito de sódio frente a microrganismos de interesse alimentar. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhi. A fotoinativação foi avaliada em suspensão bacteriana de *S. aureus* utilizando LED azul (450 nm) e diferentes concentrações de curcumina. O potencial de interação entre os compostos foi investigado por meio do método checkerboard, com determinação do índice de concentração fracionária inibitória (ICFI). Os resultados demonstraram atividade antibacteriana significativa da curcumina, com valores de CIM variando entre 0,78 e 3,12 mg/mL, sendo *E. coli* a bactéria mais sensível (0,78 mg/mL). Em comparação, a nisina apresentou CIM entre 12,5 e >25 mg/mL, enquanto o nitrito de sódio variou entre 12,5 e 100 mg/mL. A curcumina apresentou predominantemente efeito bacteriostático nas concentrações avaliadas e maior capacidade inibitória em relação aos conservantes convencionais. Nos ensaios de fotoinativação, observou-se redução progressiva da viabilidade de *S. aureus*, culminando em inativação total ($\approx 7,2 \log_{10}$ UFC/mL) após 60 minutos de irradiação, correspondente a uma fluência óptica aproximada de 151 J/cm², demonstrando efeito dependente do tempo de exposição e da concentração do fotossensibilizador. A associação entre curcumina e nisina apresentou interação sinérgica tanto na ausência quanto na presença de fotoinativação, com valores de ICFI de 0,21 e 0,25, respectivamente, resultando em redução expressiva das CIMs individuais. Por outro lado, a combinação entre curcumina e nitrito de sódio apresentou efeito predominantemente aditivo ou indiferente, dependendo da condição experimental. Observou-se ainda diferença de resposta entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas nos ensaios de combinação e fotoinativação. Conclui-se que a curcumina apresenta elevado potencial como agente antimicrobiano natural, especialmente quando associada à nisina e aplicada sob fotoinativação, representando uma estratégia promissora para redução do uso de conservantes convencionais e para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis de conservação de alimentos.

Palavras-chave: Biopreservação. Fotoinativação. Nisina. Nitrito de Sódio. *Staphylococcus aureus*.

Janaína Theila Pinheiro Meier

Antibacterial Activity of Curcumin Mediated by Photodynamic Inactivation and Combination with Food Preservatives

ABSTRACT: The microbiological safety of food remains a global challenge, driving the search for natural and effective alternatives to conventional preservatives. In this context, curcumin, a natural polyphenol extracted from *Curcuma longa*, has stood out due to its antimicrobial properties. Additionally, it shows potential as a photosensitizer in photodynamic antimicrobial inactivation processes mediated by visible light, promoting the generation of reactive oxygen species capable of causing damage to microbial cell structures. In addition, the association of curcumin with food additives can enhance its activity and allow for a reduction in applied concentrations, contributing to safer food preservation strategies. The present study aimed to evaluate the antibacterial activity of isolated curcumin, its effect under photoinactivation, and the synergistic potential in combination with nisin and sodium nitrite against microorganisms of food interest. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by the broth microdilution method against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhi. Photoinactivation was evaluated in a bacterial suspension of *S. aureus* using blue LED (450 nm) and different concentrations of curcumin. The potential for interaction between the compounds was investigated using the checkerboard method, with determination of the fractional inhibitory concentration index (FICI). The results demonstrated significant antibacterial activity of curcumin, with MIC values ranging from 0.78 to 3.12 mg/mL, with *E. coli* being the most sensitive bacterium (0.78 mg/mL). In comparison, nisin showed MICs between 12.5 and >25 mg/mL, while sodium nitrite ranged from 12.5 to 100 mg/mL. Curcumin showed a predominantly bacteriostatic effect at the evaluated concentrations and greater inhibitory capacity compared to conventional preservatives. In photoinactivation assays, a progressive reduction in the viability of *S. aureus* was observed, culminating in total inactivation ($\approx 7.2 \log_{10}$ CFU/mL) after 60 minutes of irradiation, corresponding to an approximate optical fluence of 151 J/cm², demonstrating an effect dependent on exposure time and the concentration of the photosensitizer. The association between curcumin and nisin showed a synergistic interaction both in the absence and presence of photoinactivation, with ICFI values of 0.21 and 0.25, respectively, resulting in a significant reduction in individual MICs. On the other hand, the combination of curcumin and sodium nitrite showed a predominantly additive or indifferent effect, depending on the experimental condition. A difference in response was also observed between Gram-positive and Gram-negative bacteria in the combination and photoinactivation assays. It is concluded that curcumin has high potential as a natural antimicrobial agent, especially when associated with nisin and applied under photoinactivation, representing a promising strategy for reducing the use of conventional preservatives and for the development of sustainable food preservation technologies.

Keywords: Biopreservation. Photoinactivation. Nisin. Sodium Nitrite. *Staphylococcus aureus*.

Atividade antibacteriana de curcumina mediada por inativação fotodinâmica e combinação com conservantes alimentícios

RESUMO: A curcumina é um composto natural com reconhecida atividade antimicrobiana e potencial aplicação em tecnologias de conservação de alimentos. Este estudo avaliou a atividade antibacteriana da curcumina frente a microrganismos de relevância alimentar, isoladamente, sob fotoinativação e em combinação com aditivos alimentares, por meio de ensaios de microdiluição em caldo, fotoinativação em microplaca e teste de interação pelo método checkerboard. Inicialmente, foram determinadas a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Bactericida Mínima da curcumina, nisina e nitrito de sódio contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhi. A curcumina apresentou atividade inibitória significativa, com CIM variando entre 0,78 e 3,12 mg/mL, destacando-se a maior sensibilidade de *E. coli* (0,78 mg/mL), com atividade superior aos aditivos convencionais avaliados. A fotoinativação mediada por LED azul promoveu redução progressiva da viabilidade bacteriana, resultando em completa inativação de *S. aureus* (redução $\geq 7,2 \log_{10}$ UFC/mL) após 60 minutos de exposição. Nos ensaios de combinação, a associação entre curcumina e nisina apresentou sinergismo tanto na ausência quanto na presença de fotoinativação (ICFI = 0,21 e 0,25, respectivamente), enquanto a combinação curcumina–nitrito de sódio apresentou efeito predominantemente aditivo ou indiferente, dependendo da condição experimental. Os resultados evidenciam o potencial da curcumina como agente antimicrobiano natural, especialmente quando associada à nisina e aplicada sob fotoinativação, indicando uma estratégia promissora para o controle microbiano e a redução do uso de conservantes convencionais em alimentos.

Palavras-chave: Biopreservação; Fotoinativação; Sinergismo; LED azul.

1. INTRODUÇÃO

A segurança microbiológica dos alimentos permanece como um dos principais desafios globais para a indústria e para os órgãos reguladores, uma vez que patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* estão associados a elevada incidência de surtos e perdas econômicas relevantes (WHO, 2022). A urgência em mitigar esses riscos é reconhecida em escala global pela Estratégia Mundial da Organização Mundial da Saúde para a Segurança dos Alimentos 2022–2030, que estabelece metas voltadas ao fortalecimento dos sistemas de controle e à redução da carga das doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (WHO, 2022). As DTAs são causadas pela ingestão de alimentos contaminados e podem ocorrer em qualquer etapa da cadeia produtiva, desde a produção primária até o consumo final. Essas contaminações podem resultar de fatores ambientais, como poluição da água, do solo e do ar, além de falhas nas práticas de armazenamento e processamento (WHO, 2022).

Diante desse cenário, estratégias capazes de reduzir a carga microbiana sem comprometer as características sensoriais e nutricionais dos alimentos tornam-se fundamentais. Nesse contexto, tem-se intensificado o interesse pelo uso de biopreservantes e agentes naturais antimicrobianos. Ranathunga et al. (2023) destacam que esses compostos podem prolongar a vida útil de produtos alimentares por meio da inibição de microrganismos deteriorantes. Da Silva et al. (2024) ressaltam o potencial desses agentes na melhoria da segurança microbiológica dos alimentos. Além disso, Cabezudo et al. (2025) enfatizam que o uso de compostos naturais representa uma alternativa promissora aos aditivos sintéticos tradicionais, reduzindo possíveis efeitos adversos à saúde. Essas abordagens envolvem compostos de diversas origens, incluindo bactérias e seus metabólitos, extratos vegetais e óleos essenciais que atuam diretamente na inibição de microrganismos deteriorantes e patogênicos, representando alternativas promissoras para conservação segura e sustentável de alimentos.

No contexto brasileiro, Marques e Trindade (2022) relataram a participação desses microrganismos em 14.590 surtos notificados entre 2000 e 2021, envolvendo mais de 266 mil casos confirmados.

A indústria de alimentos tem dependido historicamente de aditivos sintéticos, como os nitritos (E250), ou de agentes biológicos com eficácia limitada, como a nisina, com o objetivo de controlar o crescimento microbiano, inibir patógenos e prolongar a

vida útil dos produtos, especialmente em sistemas cárneos e alimentos processados (GHARSALLAOUI *et al.*, 2016; NABIZADEH *et al.*, 2024). O nitrito de sódio é amplamente empregado na indústria de produtos cárneos devido à sua função conservante e antimicrobiana, contribuindo para a inibição da germinação de *Clostridium botulinum*, além de melhorar características sensoriais como cor e sabor.

Entretanto, sua utilização está associada à formação de compostos N-nitrosos sob determinadas condições tecnológicas, especialmente em ambientes ácidos e sob tratamento térmico, o que configura uma preocupação toxicológica e regulatória. Uma avaliação abrangente da literatura conduzida pela Food Standards Agency (FSA) destaca que, embora os níveis permitidos de nitrito sejam considerados seguros na maioria dos países, fatores como tempo e temperatura de cocção podem favorecer a formação de nitrosaminas, reforçando a necessidade de monitoramento contínuo e de estratégias que possibilitem a redução das concentrações aplicadas sem comprometer a segurança microbiológica dos alimentos (KAUR *et al.*, 2025). Corroborando essa preocupação, estudos analíticos recentes demonstraram a ocorrência de N-nitrosaminas voláteis em produtos cárneos processados, enfatizando a importância do monitoramento da exposição dietética e da avaliação gestão de risco para a saúde humana (NABIZADEH *et al.*, 2024).

A nisina, por sua vez, é uma bacteriocina natural, produzida pela bactéria *Lactococcus lactis*, amplamente reconhecida como segura (Generally Recognized as Safe – GRAS) pela U.S Food and Drug administration (FDA), e eficaz principalmente contra bactérias Gram-positivas, mas enfrenta limitações tecnológicas significativas. Gharsallaoui *et al.* (2016), por exemplo, apontam para sua restrita atividade em pH neutro ou alcalino e sua instabilidade na matriz alimentar. Adicionalmente, Wang *et al.* (2025) ressaltam a perda de eficácia da nisina na presença de componentes complexos, como lipídios e proteínas e variações no pH.

Uma tecnologia emergente de grande interesse no controle microbiano é a inativação fotodinâmica antimicrobiana (antimicrobial photodynamic inactivation, aPDI), que se baseia na combinação de um fotossensibilizador, luz de comprimento de onda apropriado e oxigênio molecular para gerar espécies reativas de oxigênio (EROs), incluindo oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e radicais que causam danos oxidativos a componentes celulares essenciais de microrganismos, levando à perda de viabilidade. A inativação fotodinâmica antimicrobiana representa uma alternativa não térmica aos métodos tradicionais de descontaminação, com vantagens como amplo espectro de ação, menor

probabilidade de indução de resistência e potencial aplicabilidade em diversas etapas das cadeias alimentares. Estudos clássicos sobre os mecanismos e a eficácia da inativação fotodinâmica antimicrobiana demonstram que a combinação adequada entre fotossensibilizador e irradiância pode promover danos oxidativos irreversíveis à membrana celular, às proteínas e ao DNA de bactérias, fungos e outros microrganismos, inclusive em biofilmes (HAMBLIN, 2016; DIAS *et al.*, 2020).

Diante das limitações toxicológicas e tecnológicas, observa-se crescente interesse por estratégias alternativas e complementares, como o uso de compostos naturais com atividade antimicrobiana e abordagens combinadas baseadas no conceito de tecnologia de barreiras, que visam reduzir as concentrações individuais de aditivos convencionais sem comprometer a segurança microbiológica dos alimentos (MUNIR *et al.*, 2022). Nesse contexto, a curcumina, um polifenol natural majoritariamente extraído do rizoma de *Curcuma longa*, tem se consolidado como um agente promissor devido às suas múltiplas propriedades biológicas, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias (EDWARDS, 2017), antitumorais (MIRZAEI *et al.*, 2020) e antimicrobianas (MUNIR *et al.*, 2022). Além disso, apresenta perfil de segurança favorável, sendo aprovada como aditivo alimentar (E100) pela FAO/OMS e classificada como (GRAS) pela FDA (MUNIR *et al.*, 2022).

A literatura também destaca o potencial tecnológico da curcumina na conservação de alimentos, especialmente devido à sua capacidade de atuar como fotossensibilizador em processos de inativação fotodinâmica (ZHANG *et al.*, 2023). Quando exposta à luz azul visível em comprimento de onda adequado, com pico de absorção entre ~400 e 500 nm, a curcumina gera espécies reativas de oxigênio (EROs), como oxigênio singleto e radicais livres, sendo o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) a principal espécie citotóxica envolvida, capaz de provocar danos oxidativos irreversíveis às células bacterianas (MUNIR *et al.*, 2022). Resultados de inativação microbiana significativa e completa têm sido reportados, reforçando o potencial dessa tecnologia como alternativa inovadora aos conservantes tradicionais (FERREIRA DOS SANTOS *et al.*, 2019).

Paralelamente, estratégias baseadas na associação de agentes antimicrobianos têm sido amplamente investigadas com o objetivo de reduzir as concentrações aplicadas, potencializar a eficácia e minimizar riscos toxicológicos. Um estudo recente demonstra que a combinação entre curcumina e nisina pode resultar em interações sinérgicas, que ampliam o espectro de ação e a eficiência antimicrobiana frente a microrganismos de

interesse alimentar (ZHANG *et al.*, 2025). De forma complementar, a fotoinativação mediada por curcumina tem se destacado como tecnologia emergente, apresentando elevada eficácia tanto frente a bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Bhavya e Hebbar (2019) demonstraram que a curcumina fotoativada por LED azul promove reduções expressivas nas cargas bacterianas de *Escherichia coli* (até 5,94 log UFC/ml) e *Staphylococcus aureus* (até 5,91 log UFC/mL), esses resultados corroborados por estudos subsequentes que empregaram a curcumina isolada ou em associação com outros agentes naturais (FERREIRA DOS SANTOS *et al.*, 2019; MUNIR *et al.*, 2022).

Apesar desses avanços, ainda são limitados os estudos que avaliam de forma integrada a atividade antimicrobiana da curcumina isolada, os efeitos da fotoinativação ao longo do tempo e o potencial sinérgico da curcumina em associação com aditivos alimentares consagrados, como a nisina, especialmente considerando microrganismos de elevada relevância para a segurança de alimentos, como *S. aureus* e *E. coli*. Embora a geração de espécies reativas de oxigênio seja fundamental para a eficácia da inativação fotodinâmica antimicrobiana, seu impacto em matrizes alimentares ainda não está completamente elucidado, uma vez que essas espécies podem reagir com componentes do alimento, como lipídios e proteínas, potencialmente afetando características sensoriais e nutricionais. Dessa forma, torna-se necessária uma investigação aprofundada que explore essas abordagens combinadas, visando gerar conhecimento aplicável ao desenvolvimento de tecnologias naturais, eficazes e sustentáveis para a conservação de alimentos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana da curcumina mediada por fotoinativação e combinação com aditivos alimentares, frente a microrganismos de interesse alimentar.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Utilizou-se a curcumina ($\geq 96\%$ de curcuminoides), obtida a partir de *Curcuma longa* (CAS 458-37-7; fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_6$; peso molecular 368,38 g/mol), foi adquirida de fornecedor farmacêutico (SM Empreendimentos Farmacêuticos Ltda., Brasil), acompanhada de certificado de análise indicando teor de 96,09% determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As cepas bacterianas padrão ATCC (American Type Culture Collection) utilizadas no estudo, bem como o caldo e ágar Mueller-Hinton, foram obtidos da Kasvi (Pinhais, Paraná, Brasil). O nitrito de sódio foi

adquirido da Dinâmica (Indaiatuba, São Paulo, Brasil). A nisina (INS 234), bacteriocina produzida por fermentação de *Lactococcus lactis*, foi fornecida por Servale Produtos Alimentícios Ltda.–EPP (Alto Piquiri, Paraná, Brasil), apresentando potência mínima de $\geq 10^6$ UI/g, teor de cloreto de sódio $\geq 50\%$ e umidade $< 3\%$, conforme especificação técnica do fabricante. Tween 80 (polissorbato 80), cloreto de sódio e 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) foram adquiridos da Reatec (São Paulo, Brasil).

2.2 Atividade antibacteriana

2.2.1 Microrganismos

As espécies bacterianas utilizadas na pesquisa incluíram microrganismos Gram-positivos, como *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* ATCC 7643 e microrganismos Gram-negativos, como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Typhi ATCC 19214. Os microrganismos foram provenientes do Laboratório de Biotecnologia de Produtos Vegetais e de Microrganismos da Universidade Paranaense – Umuarama.

2.2.2 Preparo e padronização do inóculo

Para os ensaios, foi preparada a diluição da massa celular bacteriana a partir do cultivo por 24 horas em placa de Petri contendo ágar Mueller Hinton e incubada a 37 °C. A partir das colônias isoladas, foi preparada uma suspensão em solução salina estéril a 0,9% (m/v). A turbidez da suspensão foi ajustada de acordo com a escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e conferida em espectrofotômetro de microplacas, (SpectraMax Plus 384, Molecular Devices, San Jose, CA, EUA) a 625 nm.

Em seguida, a suspensão foi submetida a uma diluição de 1:10 em caldo Mueller Hinton, obtendo-se o inóculo final de $1,5 \times 10^7$ UFC/mL. Para os ensaios de CIM, o inóculo final nos poços (após a adição à amostra) foi de $1,5 \times 10^5$ UFC/mL.

2.2.3 Atividade antibacteriana pelo método de microdiluição em caldo

Foi realizado a determinação da CIM de cada microrganismo frente à curcumina, por meio da técnica de microdiluição em série utilizando microplacas de 96 poços. A CIM foi determinada de acordo com o método de microdiluição em caldo, seguindo as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015), modificado para produtos naturais. Curcumina foi preparada com água destilada estéril e Tween 80 (2%

do volume final da solução) e foi avaliada nas concentrações de 25,00 a 0,05 mg/mL. O volume total da solução por poço foi de 100 μ L. Após a diluição seriada, 50 μ L do inóculo ($1,5 \times 10^5$ UFC/mL) foram adicionados a cada poço. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas. A leitura foi realizada com a adição de 20 μ L do revelador 2,3,5-cloreto de trifeniltetrazólio a 1,0% em cada poço, seguida de incubação das microplacas a 35 °C por 20 minutos. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano visível, sendo identificada pela manutenção da coloração azul do revelador, enquanto a alteração para coloração rosa indicou atividade metabólica e, conseqüentemente, crescimento microbiano. A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada pelo subcultivo de 20 μ L de cada poço em placas de Petri contendo ágar Muller Hinton, incubadas a 35 °C por 24 horas. Os controles positivos de nisina e nitrito de sódio foram dissolvidos em água destilada estéril e submetidos à mesma técnica de microdiluição em caldo, com diluições seriadas 1:2. Foram utilizados controles antimicrobianos comerciais como nisina (25,00 a 0,05 mg/mL) e nitrito de sódio (100,00 a 0,39 mg/mL). Foi utilizado um controle positivo do crescimento microbiano, contendo inóculo e meio de cultura para cada espécie.

2.2.4 Fotoinativação de *Staphylococcus aureus* usando curcumina

A capacidade de inativação fotodinâmica do extrato de curcumina foi avaliada em uma microplaca de 24 poços frente à *S. aureus*, nas concentrações 0,5 x CIM, 1,0 x CIM, 2,0 x CIM e 4,0 x CIM, conforme determinado resultado da CIM anteriormente. O controle (inóculo irradiado, mas sem curcumina) também foi avaliado. Antes da irradiação, a placa foi mantida por 10 minutos a 25 °C, no escuro para permitir a interação entre a curcumina e a célula bacteriana. Em seguida, a placa foi irradiada com LED azul (450 nm), com uma Densidade de Potência (Irradiância) de 41,98 mW/cm². As amostras foram expostas por tempos de 0, 10, 20, 30 e 60 minutos de tratamento, o que corresponde, respectivamente, às fluência ópticas de, aproximadamente, 0; 25; 50; 75, 151 J/cm². Posteriormente, foi realizada a diluição em solução salina 0,85% e o plaqueamento em ágar Muller Hinton, sendo então incubadas por 24 h a 35 °C. Os resultados foram expressos em UFC/mL.

2.2.5 Ensaio de combinação entre curcumina e aditivos alimentares

O potencial efeito sinérgico antibacteriano das combinações de curcumina com nisina e com nitrito de sódio foi avaliado pelo método de *checkerboard*, seguindo a metodologia adaptada de Batista et al. (2019). Os ensaios foram realizados em microplacas de 96 poços, utilizando concentrações definidas com base nos valores de CIM previamente determinados para a curcumina, nisina e nitrito de sódio em ensaio anterior. Os experimentos foram conduzidos em duas condições: na ausência e na presença de fotoinativação. Para os ensaios sem fotoinativação, as microplacas foram incubadas a 35 °C por 24 h. Para os ensaios com fotoinativação, após a preparação das microplacas, estas foram mantidas no escuro por 10 minutos a 25 °C para permitir a interação entre a curcumina e as células bacterianas. Em seguida, foram irradiadas com LED azul (450 nm), com irradiância de 41,98 mW/cm², por tempo de exposição de 20 minutos, correspondente à fluência óptica aplicada no experimento. Após a irradiação, as microplacas foram incubadas a 35 °C por 24 h. Após o período de incubação, foi determinado o Índice de Concentração Fracional Inibitória (ICFI) para cada combinação. Nesta análise, a substância A corresponde à curcumina (ICFI_A) e a substância B ao aditivo testado (ICFI_B). O cálculo do ICFI seguiu as Equações 1, 2 e 3:

Equação 1:

$$\text{ICFI}_A = \frac{\text{CIM da substância A em combinação}}{\text{CIM da substância A isolada}}$$

Equação 2:

$$\text{ICFI}_B = \frac{\text{CIM da substância B em combinação}}{\text{CIM da substância B isolada}}$$

Equação 3:

O ICFI total foi então determinado pela soma dos valores de ICFI_A e ICFI_B, conforme a Equação 3:

$$\text{ICFI}_{\text{total}} = \text{ICFI}_A + \text{ICFI}_B$$

O ICFI foi definido como a soma das razões entre a CIM de cada composto antibacteriano em combinação dividido pelo CIM do composto bacteriano isolado

(Batista *et al.*, 2019). Os resultados foram interpretados de acordo com os critérios propostos por Odds (2003), sendo classificados como sinergismo ($ICFI \leq 0,5$), adição ou efeito aditivo ($0,5 < ICFI \leq 1$), indiferença ($1 < ICFI \leq 4$) e antagonismo ($ICFI > 4$) no ensaio *checkerboard*.

2.3 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata ($n=3$), e os resultados foram expressos como média aritmética \pm desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) One Way, este de comparações múltiplas de Tukey, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software InfoStat (InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

3. RESULTADOS

3.1 Atividade antibacteriana de curcumina e aditivos alimentares

Os resultados da avaliação da atividade antibacteriana da curcumina, nisina e nitrito de sódio isoladamente frente aos quatro microrganismos de interesse alimentar são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) da curcumina, nisina e nitrito de sódio frente às bactérias de origem alimentar.

Bactéria	Curcumina (mg/mL) CIM CBM	Nisina (mg/mL) CIM CBM	Nitrito de sódio (mg/mL) CIM CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,12 ± 0,00 ^{aB}	12,50 ± 0,00 ^{cB}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	>25,00	>25,00	100,00 ± 0,00 ^{bB}
<i>Listeria monocytogenes</i>	3,12 ± 0,00 ^{aB}	>25,00 ± 0,00 ^{cB}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	>25,00	>25,00	100,00 ± 0,00 ^{bB}
<i>Salmonella enterica</i> <i>subsp. enterica</i> Typhi	3,12 ± 0,00 ^{aB}	12,50 ± 0,00 ^{bA}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	>25,00	>25,00	100,00 ± 0,00 ^{bB}
<i>Escherichia coli</i>	0,78 ± 0,00 ^{aA}	>25,00 ± 0,00 ^{cC}	12,50 ± 0,00 ^{bA}
	>25,00	>25,00	25,00 ± 0,00 ^{aA}

Os valores estão expressos como média ± desvio padrão, acompanhados por letras indicadoras de diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas comparam os valores de CIM/CBM entre os compostos dentro da mesma bactéria (linhas), enquanto letras maiúsculas comparam os valores de CIM/CBM entre as diferentes espécies bacterianas dentro de cada composto (colunas).

A curcumina apresentou valores de CIM entre 0,78 e 3,12 mg/mL, sendo observada maior sensibilidade para *E. coli* (0,78 ± 0,00 mg/mL), com diferença estatisticamente significativa em relação às demais bactérias avaliadas ($p < 0,05$). Embora tenha exibido efeito inibitório consistente, nenhuma das cepas apresentou concentração bactericida nas faixas testadas, indicando ação predominantemente bacteriostática e com amplo espectro frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Para a nisina, os valores de CIM variaram entre 12,50 e >25,00 mg/mL. As bactérias *S. aureus* e *S. enterica* Typhi apresentaram maior sensibilidade, ambas com CIM de 12,50 mg/mL. Por outro lado, *E. coli* e *L. monocytogenes* apresentaram menor

susceptibilidade, exibindo CIMs superiores a 25,00 mg/mL. Os valores de CBM também permaneceram acima de 25,00 mg/mL para todas as cepas, indicando ausência de atividade bactericida dentro das faixas avaliadas.

O nitrito de sódio apresentou valores de CIM iguais a 12,50 mg/mL para todas as espécies bacterianas. Os valores de CBM variaram de 25,00 a 100,00 mg/mL, sendo o menor valor registrado novamente para *E. coli* (25,00 mg/mL).

Quando comparada aos antimicrobianos padrões, a curcumina apresentou maior atividade inibitória frente a *S. aureus*, microrganismo frequentemente utilizado como modelo experimental devido à sua relevância em surtos de doenças transmitidas por alimentos. O valor de CIM para curcumina (3,12 mg/mL) foi aproximadamente cinco vezes menor que a da nisina (12,50 mg/mL) e quatro vezes menor que a do nitrito de sódio (12,5 mg/mL), indicando maior potência antimicrobiana sob as condições testadas.

Da mesma forma, para *E. coli*, a curcumina demonstrou maior potência antimicrobiana em relação aos compostos padrão. A CIM observada para a curcumina (0,78 mg/mL) foram substancialmente inferior às obtidas para a nisina (>25,00 mg/mL) e para o nitrito de sódio (25,00 mg/mL). Considerando o menor valor testado para a nisina, a curcumina apresentou atividade inibitória pelo menos 32 vezes superior à da nisina e aproximadamente 32 vezes superior à do nitrito de sódio, evidenciando maior eficácia sob as condições experimentais avaliadas. Diante desses resultados e da reconhecida relevância epidemiológica de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em surtos de doenças transmitidas por alimentos, essas espécies foram selecionadas como modelos experimentais para os ensaios subsequentes.

3.2 Atividade antibacteriana de curcumina sob fotoinativação em *Staphylococcus aureus*

A **Figura 1** apresenta a contagem bacteriana (\log_{10} UFC/mL) ao longo do tempo sob diferentes concentrações de curcumina submetidas à fotoinativação.

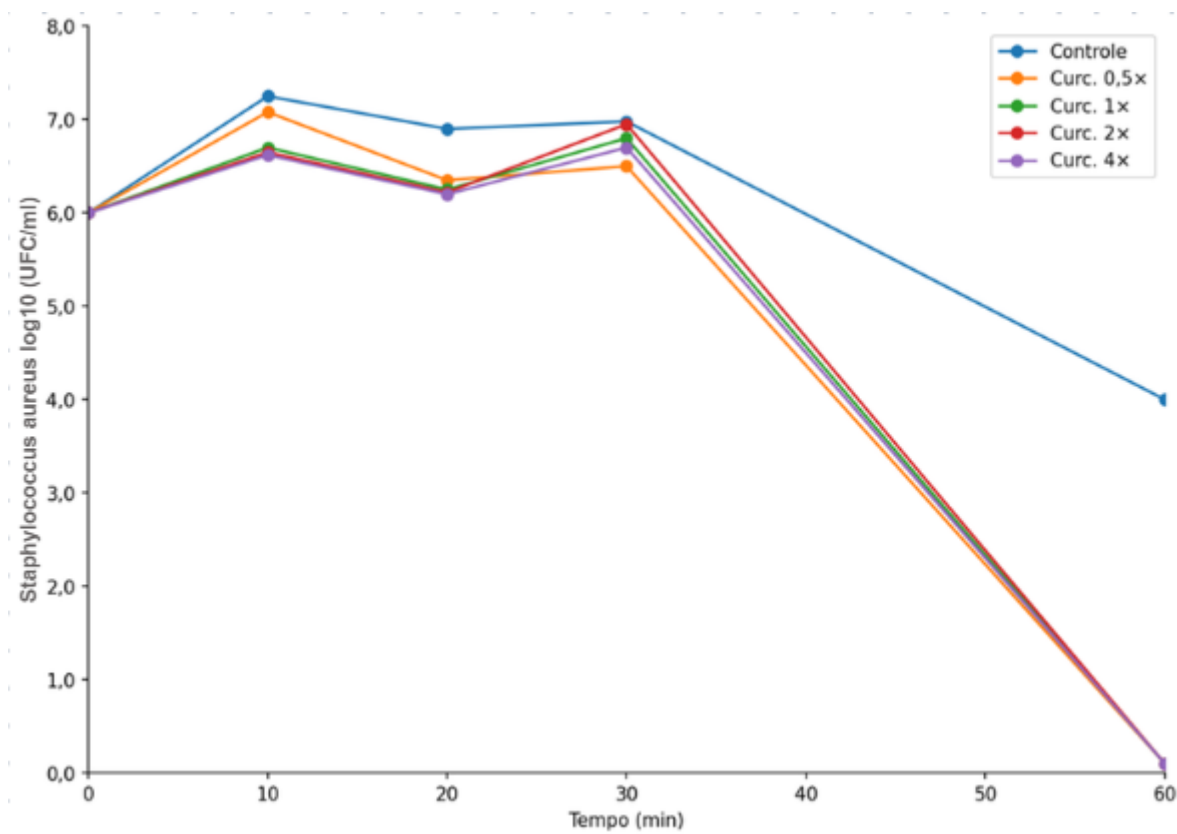


Figura 1– Crescimento bacteriano (\log_{10} UFC/mL) de *Staphylococcus aureus* ao longo dos tempos (0, 10, 20, 30 e 60 minutos) sob diferentes concentrações de curcumina (0,5x; 1x; 2x e 4x CIM) em comparação ao controle sem curcumina e fotoinativação.

No tratamento controle (apenas irradiação com LED azul), as células mantiveram elevada viabilidade entre 0 e 30 minutos, com valores próximos de 7 \log_{10} UFC/mL, seguido por queda expressiva a partir de 30 minutos, a contagem bacteriana foi de 3,97 \log_{10} UFC/mL, o que representa uma redução de 3,21 \log_{10} UFC/mL em relação ao tempo inicial.

Todas as concentrações de curcumina promoveram redução da viabilidade bacteriana já nos primeiros tempos de exposição, evidenciando a ação fotodinâmica do composto. As concentrações 1x CIM, 2x CIM e 4x CIM apresentaram ação semelhante entre si, com reduções moderadas nos tempos iniciais. Aos 20 minutos de irradiação, as

médias variaram entre 6,21 \log_{10} UFC/mL e 6,27 \log_{10} UFC/mL, representando redução aproximada de 0,7 a 0,8 log em relação ao valor inicial ($\sim 7,0 \log_{10}$ UFC/mL).

No entanto, todas as concentrações exibiram queda acentuada a partir de 30 minutos, indicando progressão da fotoinativação ao longo do tempo e atingindo completa inativação bacteriana com contagem zero, o que corresponde a uma redução $\geq 7,2 \log_{10}$ UFC/mL (abaixo do limite de detecção do ensaio).

A concentração 0,5 \times CIM apresentou menor efeito antibacteriano nos primeiros tempos com redução de cerca de 0,5 \log_{10} UFC/mL entre 0 e 20 minutos, mas acompanhou a tendência de queda final observada nas demais condições, alcançando total inativação no tempo final.

De forma geral, os resultados demonstram que a curcumina promoveu redução da viabilidade bacteriana ao longo do tempo de exposição à luz, sendo o tempo de fotoinativação o principal fator associado à inativação observada. As concentrações de 1 \times , 2 \times e 4 \times CIM apresentaram comportamento semelhante nos tempos iniciais, não sendo evidenciadas diferenças relevantes entre essas condições. A partir de 30 minutos, observou-se intensificação da redução da viabilidade bacteriana, culminando em completa inativação após 60 minutos de tratamento para todas as concentrações avaliadas.

Na Figura 2 observa-se a redução da viabilidade de *Staphylococcus aureus* ao longo da fluência óptica (T0 a T60) nos diferentes tratamentos com curcumina. Nota-se que, nos tempos iniciais, ainda há crescimento bacteriano, especialmente nas concentrações mais baixas (0,5 \times CIM), enquanto tempos prolongados de fotoinativação (T60) resultam em ausência total de colônias nas placas, evidenciando o efeito cumulativo da luz associada ao fotossensibilizador.

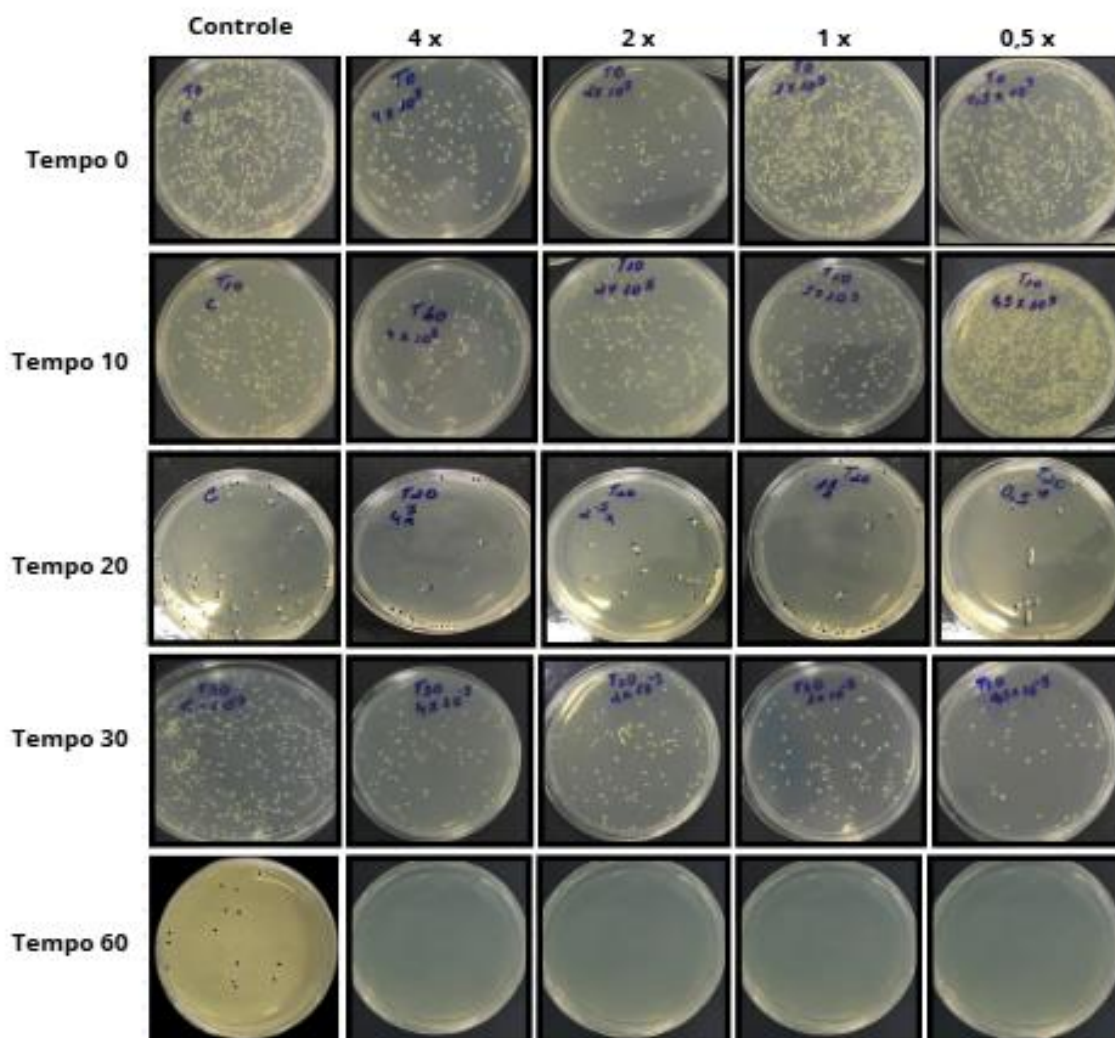


Figura 2 – Placas provenientes das contagens de *S. aureus* ao longo dos tempos (T0, T10, T20, T30 e T60) nos diferentes tratamentos com curcumina (0,5x, 1x, 2x e 4x MIC), controle e fotoinativação.

3.3 Avaliação das combinações curcumina, nisina e curcumina, nitrito de sódio sob condições com e sem fotoinativação

A Tabela 2 apresenta os valores de concentração inibitória mínima (CIM) individual, concentração inibitória mínima em combinação (CIM combinada) e ICFI obtidos no ensaio entre nisina e curcumina, bem como entre nitrito de sódio e curcumina, frente a *Staphylococcus aureus*, com e sem fotoinativação.

Tabela 2. Valores de CIM individual, CIM combinada e ICFI total das associações curcumina, nisina e curcumina, nitrito de sódio, com e sem fotoinativação (fluência óptica de 50 J/cm²), frente *Staphylococcus aureus*.

		CIM (mg/mL) individual	CIM (mg/mL) combinada	ICFI total
Sem Fotoinativação	Nis	12,5	1,05	0,21
	Cur	3,12	0,39	
Com Fotoinativação	Nis	8,4	1,05	0,25
	Cur	3,12	0,39	
Sem Fotoinativação	Nit	12,5	5,00	1,03
	Cur	3,12	1,95	
Com Fotoinativação	Nit	12,5	5,00	0,71
	Cur	3,12	0,98	

Sem exposição à luz, a curcumina apresentou CIM individual de 3,12 mg/mL, enquanto a nisina e o nitrito de sódio exibiram CIMs de 12,5 mg/mL respectivamente. Na combinação nisina–curcumina, observou-se redução expressiva das CIMs individuais, para 1,05 mg/mL (nisina) e 0,39 mg/mL (curcumina), resultando em ICFI total de 0,21, caracterizando interação sinérgica ($ICFI \leq 0,5$). De forma semelhante, a associação nitrito–curcumina sem fotoinativação reduziu as CIMs para 5 mg/mL (nitrito de sódio) e 1,95 mg/mL (curcumina), com ICFI total de 1,03, indicando interação indiferente.

Com a aplicação da fotoinativação, a CIM individual da nisina foi reduzida para 8,4 mg/mL, enquanto a da curcumina manteve-se em 3,12 mg/mL. Na combinação nisina–curcumina sob fotoinativação, as CIMs combinadas permaneceram em 1,05 mg/mL e 0,39 mg/mL, respectivamente, com ICFI total de 0,25, confirmando interação sinérgica. Para a combinação nitrito–curcumina com fotoinativação, as CIMs combinadas foram de 5 mg/mL (nitrito) e 0,98 mg/mL (curcumina), resultando em ICFI total de 0,71, caracterizando efeito aditivo com tendência à sinergia.

Considerando os efeitos observados para *S. aureus*, procedeu-se à avaliação da interação entre curcumina e aditivos alimentares frente a uma bactéria Gram-negativa. Assim, a Tabela 3 apresenta os valores de CIM individual, CIM em combinação e os

índices ICFI das associações entre curcumina e nisina, e entre curcumina e nitrito de sódio, frente a *E. coli*, na ausência e na presença de fotoinativação.

Tabela 3. Valores de CIM individual, CIM combinada e ICFI_{total} das associações curcumina, nisina e curcumina, nitrito de sódio, com e sem fotoinativação (fluência óptica de 50 J/cm²), frente *Escherichia coli*.

		CIM (mg/mL) individual	CIM (mg/mL) combinada	ICFI _{total}
Sem Fotoinativação	Nis	32,5	1,04	0,53
	Cur	0,78	0,39	
Com Fotoinativação	Nis	32,5	0,26	0,50
	Cur	0,78	0,39	
Sem Fotoinativação	Nit	12,5	2,5	1,44
	Cur	0,78	0,97	
Com Fotoinativação	Nit	12,5	0,62	1,28
	Cur	0,78	0,97	

Na ausência de fotoinativação, a curcumina apresentou CIM individual de 0,78 mg/mL, enquanto a nisina e o nitrito de sódio exibiram CIMs de 32,5 mg/mL e 12,5 mg/mL, respectivamente. A associação entre nisina e curcumina resultou em redução das CIMs individuais (1,04 mg/mL para nisina e 0,39 mg/mL para curcumina), com ICFI total de 0,53, caracterizando efeito aditivo. Já a combinação entre nitrito de sódio e curcumina apresentou ICFI total de 1,44, indicando interação indiferente.

Com a aplicação da fotoinativação, observou-se potencialização da interação entre nisina e curcumina, com redução adicional da CIM da nisina (0,26 mg/mL) e manutenção da CIM da curcumina (0,39 mg/mL), resultando em ICFI total igual a 0,50, caracterizando interação sinérgica. Em contraste, a associação entre nitrito de sódio e curcumina, apesar da redução da CIM do nitrito (0,62 mg/mL), manteve ICFI total superior a 1,0 (1,28), sendo classificada como indiferente.

De forma geral, os resultados obtidos demonstram que a curcumina apresentou atividade antimicrobiana relevante frente às bactérias avaliadas, tanto de forma isolada quanto sob fotoinativação, com efeito predominantemente dependente do tempo de

exposição e menor influência da concentração nas faixas testadas. A associação da curcumina com aditivos alimentares, especialmente a nisina, promoveu redução expressiva das concentrações inibitórias mínimas, resultando em interações classificadas como sinérgicas ou aditivas, conforme o microrganismo e a condição experimental. Esses achados indicam o potencial da combinação como estratégia promissora para o controle microbiológico em alimentos.

Observou-se que *Staphylococcus aureus* apresentou maior sensibilidade às combinações avaliadas, especialmente sob fotoinativação, enquanto *Escherichia coli* apresentou respostas distintas entre as combinações testadas, com variações nos valores de CIM combinada e nos índices de concentração inibitória fracional (ICFI).

4. DISCUSSÃO

A curcumina demonstrou atividade antibacteriana relevante frente a microrganismos de interesse em segurança de alimentos, atuando predominantemente de forma bacteriostática nas condições avaliadas. Seus efeitos antimicrobianos estão associados a múltiplos mecanismos de ação, incluindo desorganização da membrana celular, aumento da permeabilidade e indução de espécies reativas de oxigênio (EROs), resultando em danos oxidativos a proteínas, lipídios e material genético (MUNIRr *et al.*, 2022). Munir *et al.* (2022) destacam que a inativação fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina está diretamente relacionada à geração de espécies reativas de oxigênio, especialmente o oxigênio singlete, que promovem danos oxidativos às estruturas celulares bacterianas. De forma complementar, Hussain *et al.* (2022) ressaltam que esses danos ocorrem de maneira cumulativa e multifatorial, afetando membranas, proteínas e material genético, o que contribui para a inativação eficiente dos microrganismos.

Embora a EROs, seja fundamental para a eficácia antimicrobiana, é importante considerar que essas espécies podem, em princípio, reagir com componentes da matriz alimentar, como lipídios e proteínas, podendo induzir processos oxidativos (ZHAO *et al.*, 2025). Li *et al.* (2025) destacam que essas reações podem afetar a estabilidade de compostos alimentares, especialmente em sistemas ricos em lipídios.

No entanto, estudos indicam que esse efeito tende a ser limitado quando a fotoinativação é conduzida sob condições controladas. Hamblin (2016) resalta que as EROs apresentam alta reatividade e curta vida média, atuando predominantemente em

alvos próximos, como as células microbianas. De forma complementar, Zhao et al. (2025) destacam que essa ação localizada contribui para reduzir o impacto sobre a qualidade do alimento.

Além da ação direta sobre a integridade celular, Hussain et al. (2022) destacam que a curcumina apresenta propriedades antimicrobianas e funcionais amplamente investigadas, incluindo capacidade de modulação metabólica e potencial de atuação sinérgica quando combinada a outros agentes antimicrobianos. Essa multiplicidade de alvos celulares reduz a probabilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana e contribui para seu amplo espectro de atividade frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A atuação simultânea desses mecanismos pode explicar as diferenças de resposta observadas entre as espécies bacterianas avaliadas no presente estudo, especialmente quando consideradas as particularidades estruturais e fisiológicas de cada grupo microbiano.

Os valores de CIM obtidos para a curcumina (0,78 a 3,12 mg/mL) alinham-se aos dados reportados na literatura para compostos fenólicos não encapsulados. Embora sejam superiores aos índices registrados por Górski et al. (2022), que encontraram CIMs entre 0,039 e 1,25 mg/mL para *S. aureus* e *E. coli*, os resultados corroboram os achados de Munir et al. (2022), cujas concentrações inibitórias para patógenos alimentares foram próximas de 2,0 mg/mL. Essa variabilidade decorre de fatores metodológicos, como a procedência do composto, o solvente empregado e a sensibilidade intrínseca das cepas testadas. Além disso, a curcumina em estado livre frequentemente apresenta atividade em concentrações mais elevadas devido à sua natureza hidrofóbica e baixa solubilidade, fatores que favorecem a agregação molecular e limitam a interação com as células bacterianas (ZHOU *et al.*, 2025).

Comparativamente, a curcumina apresentou atividade inibitória significativamente superior à nisina e o nitrito de sódio. Essa superioridade é particularmente evidente contra microrganismos como o *S. aureus*, onde a CIM da curcumina (3,12 mg/mL) foi aproximadamente cinco vezes menor que a da nisina (16,87 mg/mL) e quatro vezes menor que a do nitrito de sódio (12,5 mg/mL). Essa potência é ainda mais pronunciada contra *E. coli*, onde a CIM da (0,78 mg/mL) se mostrou cerca de 32 vezes superior à nisina e ao nitrito de sódio. Este resultado solidifica o potencial da curcumina como um aditivo natural ou complementar em relação aos conservantes utilizados tradicionalmente (LAN *et al.*, 2023; MUNIR *et al.*, 2022).

Essa vantagem é de grande relevância tecnológica, sobretudo porque o nitrito de sódio está ligado à formação de nitrosaminas carcinogênicas quando consumido em excesso, o que representa um risco para a saúde humana (SERÔDIO *et al.*, 2022). Em relação à nisina, apesar de ser uma bacteriocina de baixa toxicidade aprovada para uso alimentar, ela apresenta desafios técnicos, incluindo a instabilidade em matrizes complexas e a perda de atividade na presença de gorduras e proteínas (GHARSALLAOUI *et al.*, 2016). Nesse contexto, o uso de combinações sinérgicas tem sido amplamente investigado como estratégia para reduzir as concentrações individuais de aditivos e ampliar o espectro de inibição bacteriana, especialmente quando compostos naturais são associados a antimicrobianos convencionais (ZHANG *et al.*, 2023; MUNIR *et al.*, 2022). Portanto, o desempenho da curcumina e sua capacidade de interagir positivamente com outros compostos justificam seu mérito como componente chave na aplicação da Tecnologia de Barreiras, visando sistemas de conservação mais seguros e naturais.

A escolha de *S. aureus* e *E. coli* como modelos experimentais permitiu avaliar o comportamento da curcumina frente a bactérias com estruturas celulares distintas. Enquanto *S. aureus*, Gram-positiva, apresentou maior sensibilidade às combinações avaliadas, *E. coli*, Gram-negativa, demonstrou respostas mais conservadoras, especialmente nas associações envolvendo nitrito. Estudos recentes indicam que a membrana externa rica em lipopolissacarídeos das Gram-negativas atua como barreira física à difusão de compostos hidrofóbicos, incluindo fotossensibilizadores como a curcumina, reduzindo sua penetração e eficácia intracelular (ELAGIN *et al.*, 2023). Adicionalmente, mecanismos antioxidantes bacterianos podem atenuar o impacto das EROs geradas durante a fotoinativação (SURUR *et al.*, 2024), o que pode explicar a menor intensidade de sinergismo observada para *E. coli*.

S. aureus é um patógeno de alta importância em surtos de doenças transmitidas por alimentos e é uma das principais causas de intoxicação alimentar no Brasil (TRINDADE *et al.*, 2022). Além disso, essa bactéria é amplamente empregada em estudos de fotoinativação em matrizes alimentares, facilitando a comparação com a literatura (MIAZAKI *et al.*, 2022; MUNIR *et al.*, 2022).

A fotoinativação mediada por curcumina demonstrou ser eficiente contra *S. aureus*. A redução gradual da viabilidade ao longo do tempo, culminando em completa inativação aos 60 minutos de exposição, corrobora com descritos por Bhavya e Hebbar (2019), que observaram reduções superiores a 5 log₁₀ CFU/mL para *S. aureus* e *E. coli*

utilizando curcumina a 10 μM ($\approx 3,7 \mu\text{g/mL}$) associada à irradiação por LED azul. Esses autores destacam que a eficácia da fotoinativação depende diretamente da concentração do fotossensibilizador, da fluência óptica e do tempo de exposição, fatores que influenciam diretamente a quantidade de EROs geradas e, conseqüentemente, a magnitude do dano celular.

A eficiência da fotoinativação de *S. aureus* observada neste estudo corrobora os achados de Ferreira dos Santos et al. (2019), nos quais o uso de curcumina (0,75 mg/mL) sob LED azul resultou em *fotokilling* completo. No entanto, é fundamental considerar que a eficácia da inativação fotodinâmica tende a ser inferior em matrizes alimentares reais quando comparada a sistemas em caldo. Estudos realizados em queijos e outros produtos lácteos demonstram que fatores como turbidez, teor de gordura e propriedades ópticas da matriz interferem na penetração da luz e na distribuição do fotossensibilizador (FERREIRA DOS SANTOS *et al.*, 2019; MIAZAKI *et al.*, 2022). Portanto, os resultados obtidos em suspensão neste trabalho representam um cenário de eficácia otimizada, servindo como base técnica para o desenvolvimento de aplicações reais que, futuramente, exigirão ajustes para superar as complexidades das matrizes alimentares.

No contexto da interação entre curcumina e nisina, os resultados de *checkerboard* revelaram sinergismo significativo nas duas condições avaliadas, tanto na ausência quanto na presença de fotoinativação, com valores de ICFI inferiores a 0,5 (Tabela 2). A forte redução das CIMs de ambos os compostos quando associados indica interação positiva entre seus mecanismos de ação, enquanto a curcumina fotoativada promove dano oxidativo e compromete a integridade celular, a nisina atua formando poros na membrana plasmática, facilitando a entrada de agentes antimicrobianos. Tais achados são coerentes com estudos de Zhang et al. (2025), que demonstraram que curcumina e nisina, quando encapsuladas em lipossomas e associadas à fotodinâmica, exibem atividade sinérgica expressiva contra *Listeria monocytogenes*, inclusive reduzindo a formação e viabilidade de biofilmes. Embora o presente estudo tenha avaliado as substâncias de curcumina para *S. aureus*, a concordância entre os resultados indica que a associação é promissora.

Para *E. coli*, os valores de ICFI (0,53 sem luz e 0,50 com luz) situaram-se próximos ao limite entre interação aditiva e sinérgica. Tal proximidade sugere que pequenas variações experimentais podem alterar a classificação formal da interação. Estudos recentes ressaltam que a interpretação do ICFI deve ser contextualizada com base nos efeitos biológicos observados, considerando a variabilidade inerente aos ensaios de

combinação antimicrobiana (SURUR *et al.*, 2024). Assim, embora classificada como aditiva ou limítrofe à sinergia, a associação sob fotoinativação demonstrou tendência de potencialização do efeito antimicrobiano.

Por outro lado, a combinação curcumina e nitrito apresentou predominantemente interação indiferente frente a *E. coli*. Essa resposta pode estar relacionada à ausência de complementaridade direta entre os mecanismos de ação envolvidos. Enquanto a curcumina fotoativada depende da geração de EROs, o nitrito exerce ação antimicrobiana associada à formação de espécies reativas de nitrogênio e alterações metabólicas dependentes do ambiente (ZHANG *et al.*, 2023). A divergência pode limitar o potencial sinérgico da associação, particularmente em bactérias Gram-negativas, cuja estrutura de membrana já impõe restrições adicionais à difusão de compostos.

Sob o ponto de vista tecnológico, a curcumina, isolada ou em combinação com a nisina, destaca-se como alternativa alinhada a estratégias de conservação natural e ao desenvolvimento de produtos clean label, com potencial aplicação em coatings comestíveis, embalagens ativas e sistemas de iluminação controlada, conforme discutido por Munir *et al.* (2022). Entretanto, estudos adicionais são necessários, sobretudo para aplicações em alimentos reais, nos quais fatores intrínsecos da matriz podem atenuar a eficácia da inativação fotodinâmica, como ressaltado por Miazaki *et al.* (2022). Assim, os resultados deste estudo fornecem fundamentação para pesquisas futuras que explorem a curcumina fotoativada em sistemas alimentares reais e em associação com bacteriocinas ou outros aditivos naturais.

5. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstrou que a curcumina possui um elevado potencial antimicrobiano frente a patógenos de relevância alimentar, destacando-se por superar a eficácia inibitória de aditivos convencionais, como a nisina e o nitrito de sódio. A atividade da curcumina mostrou-se dependente da espécie bacteriana, com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* apresentando as maiores sensibilidades ao composto em sua forma livre.

A fotoinativação mediada por luz azul (450 nm), potencializou significativamente a ação da curcumina, resultando na completa eliminação de *S. aureus* em sistema modelo após 60 minutos de exposição. Esse efeito cumulativo evidencia a eficácia do processo e

reforça a viabilidade do uso da luz como um gatilho tecnológico para aumentar a segurança microbiológica em sistemas de conservação.

As associações entre os agentes revelaram que a combinação curcumina e nisina é altamente promissora, apresentando sinergismo tanto na ausência quanto na presença de fotoinativação. Essa interação positiva permitiu uma redução expressiva nas concentrações necessárias de ambos os compostos, o que é fundamental para minimizar possíveis impactos sensoriais e custos industriais. Em contrapartida, a associação com o nitrito de sódio mostrou-se predominantemente indiferente ou aditiva, sugerindo que a eficácia das combinações antimicrobianas depende da complementaridade entre os agentes utilizados.

Dessa forma, dentre as condições avaliadas, a combinação entre curcumina e nisina associada à fotoinativação por 60 minutos destaca-se como a estratégia mais promissora para o controle microbiológico, por promover inativação eficiente com menores concentrações dos compostos.

No entanto, a aplicação desses resultados em alimentos deve ser interpretada com cautela, sendo necessários estudos adicionais em matrizes alimentares reais para validar sua eficácia e avaliar possíveis impactos na qualidade do produto.

6. AGRADECIMENTOS

A autora agradece à Universidade Paranaense – UNIPAR pelo suporte institucional e pela infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento desta pesquisa. À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), pelo apoio técnico e pela colaboração essencial na condução dos experimentos. Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pelo acompanhamento acadêmico e científico ao longo do curso. Agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio e fomento à formação de recursos humanos. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação Araucária pelo financiamento e estímulo à pesquisa científica no Estado do Paraná.

7. REFERÊNCIAS

BATISTA, A. F. P. et al. Inhibition of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by combined carvacrol and potassium sorbate in vitro and in tomato paste. **LWT – Food Science and Technology**, v. 100, p. 92–98, 2019.

BHAVYA, M. L.; HEBBAR, H. U. Efficacy of blue LED in microbial inactivation: Effect of photosensitization and process parameters. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 296–304, 2019.

CABEZUDO, Ignacio et al. Natural bioactive compounds in food preservation and safety. **Frontiers in Nutrition**, v. 12, p. 1720905, 2025.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard M07-A10**. Wayne: CLSI, 2015.

DA SILVA, Kátia Gomes et al. Food biopreservation, global trends and applications: A bibliometric approach. **Food Control**, v. 168, p. 110901, 2025.

DIAS, Lucas D. et al. Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 45, p. 100384, 2020.

EDWARDS, Rebecca L. et al. The anti-inflammatory activity of curcumin is mediated by its oxidative metabolites. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 52, p. 21243–21252, 2017.

ELAGIN, Vadim et al. Enhancement of the efficacy of photodynamic therapy against uropathogenic gram-negative bacteria species. In: **Photonics**. MDPI, 2023. p. 310.

FERREIRA DOS SANTOS, R. et al. Photodynamic inactivation of *S. aureus* with a water-soluble curcumin salt and application to cheese decontamination. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 18, n. 11, p. 2707–2716, 2019.

GHARSALLAOUI, A. et al. Nisin as a food preservative: Part 2 – Antimicrobial polymer materials containing nisin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 8, p. 1275–1289, 2016.

HAMBLIN, Michael R. Inativação fotodinâmica antimicrobiana: uma nova e promissora técnica para eliminar micróbios resistentes. **Current opinion in microbiology**, v. 33, p. 67-73, 2016.

HUSSAIN, Yaseen et al. Antimicrobial potential of curcumin: therapeutic potential and challenges to clinical applications. **Antibiotics**, v. 11, n. 3, p. 322, 2022.

KAUR, Shraddha et al. Segurança de nitratos e nitritos como aditivos alimentares. **Pesquisa e evidências da FSA**, 2025.

- LAN, Xiang et al. A review of curcumin in food preservation: release system and photosensitization. **Food Chemistry**, v. 424, p. 136464, 2023.
- MARQUES, P. R. C.; TRINDADE, R. V. R. Panorama epidemiológico dos surtos de doenças transmitidas por alimentos entre 2000 e 2021 no Brasil. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 3, n. 3, p. 1–10, 2022. DOI: 10.51161/rem/3477.
- MIAZAKI, A. P. G. et al. Photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* on ricotta cheese using alginate coating with erythrosine. **LWT – Food Science and Technology**, v. 164, p. 113697, 2022.
- MIRZAEI, H. et al., MicroRNA: A novel target of curcumin in cancer therapy. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, n. 4, p. 3004-3015, 2018. <https://doi.org/10.1002/jcp.26055>.
- MUNIR, M. T. et al. Curcumin as a photosensitizer and its photodynamic applications: mechanisms, efficacy, and potential in food preservation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 5, p. 2600, 2022.
- NABIZADEH, Samaneh et al. Volatile N-nitrosamines in processed meat products: An approach for monitoring dietary exposure, assessing human risk, and evaluating variable correlations by principal component analysis and heat map. **Food and Chemical Toxicology**, v. 188, p. 114649, 2024.
- ODDS, F. C. Synergy, antagonism and what the checkerboard puts between them. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 1, p. 1, 2003. DOI: 10.1093/jac/dkg301.
- RANATHUNGA, Nethma Samadhi; WIJAYASEKARA, Kaushalya Nadeeshani; ABEYRATHNE, Edirisinghe Dewage Nalaka Sandun. Application of bio-preservation to enhance food safety: A review. **Food Science and Preservation**, v. 30, n. 2, p. 179-189, 2023.
- SERÓDIO, G. A. S. **Nitritos e nitratos nos alimentos e possíveis riscos para a saúde**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) — Universidade de Lisboa, Lisboa, 2022.
- SURUR, Amanda Koberstain et al. Bacterial resistance to antimicrobial photodynamic therapy: A critical update. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 255, p. 112905, 2024.
- UNITED STATES. **Food and Drug Administration**. Nisin preparation: generally recognized as safe (GRAS). Silver Spring: FDA, 2023. Disponível em: <<https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/generally-recognized-safe-gras>>. Acesso em: 13/02/2026.
- ZHANG, K. et al. A review of curcumin in food preservation: Delivery system and photosensitization. **Food Chemistry**, v. 424, p. 136464, 2023.

ZHANG, L. et al. Synergistic antibacterial and antibiofilm activity of liposome-encapsulated curcumin and nisin combined with photodynamic treatment against *Listeria monocytogenes*. **Food Chemistry**, v. 430, p. 145557, 2025.

ZHOU, Zhenlong et al. Uma revisão da tecnologia bactericida fotodinâmica mediada por curcumina para conservação de alimentos: limitações e estratégias de melhoria. **Microbiologia de Alimentos**, p. 104802, 2025.

Wang, X., Kang, W., Li, J., Deng, Z., & Gao, J. (2025). Nisina: aproveitando o conservante da natureza para o futuro da segurança alimentar e além. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 65 (34), 9045–9070.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2025.2517822>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **The Global Strategy for Food Safety 2022–2030: towards safer food for better health**. Geneva: WHO, 2022.