

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MICHELY BIÃO QUICHABA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NISINA E
NANOPARTÍCULAS DE CURCUMINA FRENTE A BACTÉRIAS DE
INTERESSE EM ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CAMPO MOURÃO

2021

MICHELY BIÃO QUICHABA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NISINA E
NANOPARTÍCULAS DE CURCUMINA FRENTE A BACTÉRIAS DE INTERESSE
EM ALIMENTOS**

**Evaluation of the antibacterial activity of nisin and curcumin nanoparticles
against bacteria of interest in foods.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dra. Fernanda Vitória Leimann.

Coorientador: Dr. Benício Alves de Abreu Filho.

CAMPO MOURÃO

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



MICHELY BIÃO QUICHABA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE NISINA E NANOPARTÍCULAS DE CURCUMINA FRENTE A BACTÉRIAS DE INTERESSE EM ALIMENTOS

Trabalho de pesquisa apresentado como parte integrante para o exame de defesa de mestrado em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia de Alimentos.

Data de aprovação:
06/12/2021

Dr. Odinei Hess Gonçalves

Dra. Daniela Bresolin

Dra. Jane Martha GratonMikcha

AGRADECIMENTOS

Durante esse período de aprendizado, esforço e empenho durante o mestrado, tive a oportunidade de ser acompanhada por pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida, e deixo registrada minha sincera gratidão.

Agradeço a minha orientadora Prof^ª. Dra. Fernanda Vitória Leimann, pela sabedoria, serenidade e paciência com que me guiou nesta trajetória.

As minhas colegas Thaysa Fernandes Moya Moreira e Amarilis Santos de Carvalho, pela ajuda e envolvimento no projeto.

A Secretaria do Curso, pela cooperação.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família e minha noiva, que sempre me apoiaram e incentivaram para que eu seguisse nos caminhos da ciência.

Enfim, ao CNPq (Chamada Universal– MCTI/CNPq Nº 28/ 2018, Processo 421541/2018-0) pelo apoio financeiro e à Central Analítica Multiusuário da UTFPR Campo Mourão (CAMulti-CM) por tornar possível a realização desta pesquisa fornecendo todos os subsídios necessários.

RESUMO

Bactérias e vírus patogênicos são responsáveis pelo maior número de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) em todo o mundo, em que destacam-se as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli*. Cada vez mais atenção tem sido dada ao uso de conservantes naturais, que prolongam a vida útil e melhoram a segurança dos alimentos. Dentre os inúmeros conservantes naturais que apresentam atividade antimicrobiana, destacam-se a nisina, uma bacteriocina amplamente utilizada na indústria de alimentos, e a curcumina, um pigmento alaranjado extraído do açafrão. Contudo, tais compostos apresentam baixa solubilidade em água, o que prejudica tanto sua aplicação, quanto sua ação nos alimentos. A nanoencapsulação tem sido amplamente estudada como uma alternativa para aumentar a solubilidade, além de otimizar a atividade antibacteriana dos compostos. Neste contexto, espera-se que a encapsulação da curcumina e sua coencapsulação com nisina, possa melhorar a viabilidade de aplicação em alimentos, além da sua ação. Desta forma, no presente trabalho objetivou-se avaliar a atividade antibacteriana determinando a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) da nisina (Nis) e de nanopartículas de curcumina (NCur, produzidas pela técnica de dispersão sólida, com polivinilpirrolidona como encapsulante e Tween 80 como surfactante) frente as bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *S. Typhimurium*. Além disso, foi avaliado o efeito da associação das NCur e em conjunto com a Nis frente aos mesmos microrganismos por concentração inibitória fracional (CIF). Verificou-se que tanto as NCur quanto a Nis apresentaram CIM (NCur = 0,75 mg/mL e Nis = 0,5 mg/mL) e CBM (NCur = 0,75 mg/L e Nis = 1,0 mg/mL) menores frente *S. aureus*, além de apresentarem sinergismo quando testadas frente à esta bactéria (FIC = 0,265). Na etapa seguinte foi realizada a coencapsulação da curcumina e da nisina (NCurNis), utilizando a proporção encontrada no sinergismo (1:1,36 ($m_{\text{curcumina}}/m_{\text{nisina}}$)) e o coencapsulado foi avaliado com relação a CIM e CBM novamente frente *S. aureus*, resultando em uma CIM de 0,064 mg/mL evidenciando um melhor efeito inibitório, quando comparadas as NCur e a nisina isoladas. Contudo não foi possível determinar a CBM para este caso. As nanopartículas foram também caracterizadas quanto as suas propriedades físico-químicas, onde verificou-se por Calorimetria Diferencial de Varredura e Análise Termogravimétrica que para as NCur os componentes ficaram completamente miscíveis e em forma amorfa (sem a presença do pico de fusão cristalina da curcumina), além de serem detectadas interações entre encapsulante/encapsulado por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier. Já no caso das NCurNis não foram determinadas interações entre encapsulante/encapsulados no mesmo nível em que as NCur, apesar de haver formação de estruturas nanométricas (Microscopia Eletrônica de Transmissão e Espalhamento Dinâmico de Luz), indicando que possivelmente a encapsulação não foi completa. Desta forma, as NCurNis apresentam potencial para maiores investigações quanto à coencapsulação e ação.

Palavras-chave: Dispersão sólida; Coencapsulação; Concentração inibitória fracional; Concentração inibitória mínima; Concentração bactericida mínima.

ABSTRACT

Pathogenic bacteria and viruses are responsible for the largest number of foodborne illnesses (FI) outbreaks worldwide, in which *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* stand out. Increasing attention has been paid to the use of natural preservatives, which extend shelf life and improve food safety. Among the numerous natural preservatives that have antimicrobial activity, nisin, a bacteriocin widely used in the food industry, and curcumin, an orange pigment extracted from saffron, stand out. However, such compounds have low water solubility, which impairs both their application and their action in food. Nanoencapsulation has been widely studied as an alternative to increase solubility, in addition to optimizing the antibacterial activity of compounds. In this context, it is expected that the encapsulation of curcumin and its co-encapsulation with other natural compounds can improve the viability of application in food, in addition to its action. Thus, the present work aimed to evaluate the antibacterial activity by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of nisin (Nis) and curcumin nanoparticles (NCur, produced by the solid dispersion technique, with polyvinylpyrrolidone as an encapsulant and Tween 80 as a surfactant) against the bacteria *S. aureus*, *E. coli* and *S. Typhimurium*. In addition, the effect of the association of NCur and together with Nis against the same microorganisms was evaluated by fractional inhibitory concentration (FIC). It was found that both NCur and Nis had MIC (NCur = 0.75 mg/mL and Nis = 0.5 mg/mL) and MBC (NCur = 0.75 mg/L and Nis = 1.0 mg/mL) smaller against *S. aureus*, in addition to presenting synergism when tested against this bacterium (FIC = 0.265). In the next step, the coencapsulation of curcumin and nisin (NCurNis) was performed, using the ratio found in the synergism (1:1.36 (mcurcumin/mnisin)) and the coencapsulation was evaluated for MIC and MBC again against *S. aureus*, resulting in a MIC of 0.064 mg/mL, showing a better inhibitory effect, when comparing NCur and nisin alone. However, it was not possible to determine the MBC for this case. The nanoparticles were also characterized as to their physicochemical properties, where it was verified by Differential Scanning Calorimetry and Thermogravimetric Analysis that for the NCur the components were completely miscible and in amorphous form (without the presence of the crystalline melting peak of curcumin), in addition to detecting interactions between encapsulant/encapsulated by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In the case of NCurNis, interactions between encapsulant/ encapsulates were not determined at the same level as NCur, despite the formation of nanometric structures (Transmission Electron Microscopy and Dynamic Light Scattering), indicating that the encapsulation was possibly not complete. Thus, NCurNis have potential for further investigations regarding coencapsulation and action.

Keywords: Solid dispersion; Coencapsulation; Fractional inhibitory concentration; Minimum inhibitory concentration; Minimal bactericidal concentration.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos.....	10
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 Patógenos alimentares: <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. Typhimurium</i>	11
3.2 Conservantes naturais.....	14
3.3 Curcumina.....	15
3.4 Nisina	15
3.5 Encapsulação de compostos bioativos: curcumina e nisina.....	16
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Materiais	22
4.2 Microrganismos	22
4.3 Síntese das nanopartículas	22
4.4 Caracterização das nanopartículas.....	23
4.5 Determinação das concentrações inibitória mínima e bactericida mínima..	24
4.6 Determinação da interação antibacteriana entre nisina e curcumina nanoencapsulada.....	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 FTIR	26
5.2 Microscopia eletrônica de Transmissão	28
5.3 Caracterização Térmica das Nanopartículas	29
5.4 Atividade antimicrobiana e sinergismo das nanopartículas e da nisina	33
6 CONCLUSÕES	36
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	37
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1. INTRODUÇÃO

Bactérias e vírus patogênicos são responsáveis pelo maior número de surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) em todo o mundo, estima-se que cerca de 600 milhões de pessoas sejam acometidas por DTAs, e em torno de 420 mil mortes por ano, sendo uma séria preocupação de saúde pública (SOUZA; SOUZA; COSTA, 2021). Dentre os patógenos de origem alimentar mais comuns, *Staphylococcus aureus* se destaca pela dificuldade em ser eliminado do ambiente, podendo causar muitos casos de intoxicação alimentar devido à capacidade de cepas enterotoxigênicas em produzir enterotoxinas estafilocócicas em alimentos (ZHAO *et al.*, 2017), *Salmonella* Typhimurium é um dos principais sorotipos responsáveis pela salmonelose humana e animal em todo o mundo (WANG *et al.*, 2019), e *Escherichia coli*, podem colonizar inofensivamente o intestino humano ou causar infecções intestinais ou extra-intestinais, incluindo doenças invasivas graves (PAKBIN; BRÜCK; ROSSEN, 2021).

As principais medidas de controle para reduzir o risco de contaminação dos alimentos são através conservantes químicos ou métodos de processamento físico, como aquecimento, processamento de alta pressão, irradiação, etc. Apesar de algumas vantagens potenciais, tais métodos de processamento também possuem várias desvantagens e limitações inevitáveis, como por exemplo, a toxicidade e a alteração das propriedades sensoriais. Dessa forma, cada vez mais atenção tem sido dada ao tratamento com biopreservativos, que prolongam a vida útil e melhoram a segurança dos alimentos, minimizando assim o efeito negativo nas propriedades nutricionais e de sabor (CHEN *et al.*, 2020).

Dentre tais biopreservativos, encontram-se as bacteriocinas que são peptídeos antimicrobianos, amplamente utilizados na indústria de alimentos, sendo a nisina uma bacteriocina naturalmente desenvolvida por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, e se destaca principalmente por sua atividade antibacteriana, especialmente contra diversas bactérias Gram-positivas (KHAN; OH, 2016). Ainda dentre os compostos naturais que possuem atividade antimicrobiana, a curcumina é um pigmento amarelo alaranjado difenólico natural extraído da cúrcuma (*Curcuma longa* L.), que possui uma ampla gama de atividades biológicas (SONG *et al.*, 2019). Contudo, a curcumina apresenta baixa solubilidade em água o que reduz sua aplicabilidade.

Diferentes estratégias surgiram para enfrentar esses problemas, como a nanoencapsulação, que aumenta a solubilidade da curcumina em água, bem como sua estabilidade em condições ácidas (MATLOUBI; HASSAN, 2020), além de otimizar a sua atividade antibacteriana (KUMARI *et al.*, 2020). Neste contexto, a coencapsulação de curcumina com outros compostos naturais, pode melhorar ainda mais a estabilidade das nanopartículas, o desempenho de entrega, (HUANG *et al.*, 2019) além de exibir função sinérgica com diferentes bioativos (SU *et al.*, 2021).

Desta forma, o presente trabalho objetificou avaliar a atividade antibacteriana da nisina (Nis), de nanopartículas de curcumina (NCur), de nanopartículas produzidas pela coencapsulação da curcumina e da nisina (NCurNis), além da possibilidade de sinergismo entre as nanopartículas NCur e a Nis, frente as bactérias *S.aureus*, *E.coli* e *S.Typhimurium*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito antibacteriano entre curcumina nanoencapsulada e nisina, bem como o resultado da coencapsulação das duas substâncias na frente *S. aureus*, *E. coli* e *S. Typhimurium*.

2.2 Objetivos Específicos

- Nanoencapsular a curcumina por dispersão sólida utilizando PVP como encapsulante;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) das nanopartículas sintetizadas e da nisina através de microdiluição em caldo frente a *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25922) e *S. Typhimurium* (ATCC 14028);
- Verificar o efeito do uso em conjunto entre a curcumina nanoencapsulada e a nisina determinando a concentração inibitória fracional (CIF) através do método de microdiluição em um esquema xadrez em placas de 96 poços;
- Coencapsular a nisina e a curcumina por dispersão sólida em PVP de acordo com a proporção encontrada entre os dois componentes em caso de sinergismo;
- Determinar as características térmicas e interações entre os componentes das nanopartículas por Calorimetria Diferencial de Varredura, Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier e Análise Termogravimétrica;
- Avaliar a morfologia das nanopartículas por Microscopia Eletrônica de Transmissão e o tamanho por Espalhamento Dinâmico de Luz.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Patógenos alimentares: *S. aureus*, *E. coli* e *S. Typhimurium*

De acordo com o Relatório Mundial de Saúde, aproximadamente um décimo das pessoas em todo o mundo adoecem todos os anos devido à contaminação dos alimentos e uma média de 1,8 milhões de pessoas morrem todos os anos devido a doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (WEI; ZHAO, 2021). No Brasil, entre 2007 e 2017, foram notificados ao Ministério da Saúde 6.632 surtos de DTAs. No total, 118.104 pessoas adoeceram. Entre os agentes envolvidos identificados 90,5% foram bactérias, em primeiro lugar a *Salmonella* (7,5%), seguida pela *E. coli* (7,2%), e *S. aureus* (5,8%) (SILVA, 2019).

Complicações causadas por DTAs podem ocorrer quando as infecções não respondem ao tratamento inicial, se espalham além do trato gastrointestinal ou se o patógeno produz toxinas que danificam órgãos vitais, como em casos de diarreias sanguinolentas causadas por cepas de *E. coli* produtores de toxina Shiga (HOFFMANN; SCALLAN WALTER, 2020). Técnicas avançadas de processamento e preservação de alimentos são projetadas para reduzir a carga de patógenos ou toxinas ou eliminá-los dos alimentos, no entanto, as técnicas de preservação de alimentos podem criar um ambiente subletal, o que por sua vez pode levar não apenas ao aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos ou às condições de preservação, mas também ao aumento da sobrevivência e virulência do patógeno (HORN; BHUNIA, 2018).

Um dos patógenos que mais causam surtos de origem alimentar no mundo é a bactéria Gram-positiva *S. aureus*, podendo ser encontrada na microbiota humana, de animais e no meio ambiente, (DA SILVA, RODRIGUES; SILVA, 2020; RUBAB *et al.*, 2018). A presença dessa bactéria em alimentos indica a má higiene alimentar, limpeza inadequada de equipamentos, contaminação cruzada por ingredientes crus ou após um processo de aquecimento, e abuso de tempo/temperatura durante o processamento de alimentos (FETSCH; JOHLER, 2018). *S. aureus* são capazes de crescer em uma ampla faixa de temperaturas variando de 7°C a 48°C com temperatura ótima em torno de 30°C a 37 °C, pH entre 4,2 a 9,3, com um ótimo de 7,0

a 7,5, tais características permitem que estas bactérias sobrevivam em uma ampla variedade de alimentos (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020).

Se o alimento for armazenado em temperatura ambiente, *S. aureus* pode produzir enterotoxinas enquanto se multiplica nos alimentos, as enterotoxinas são proteolíticas, resistentes a enzimas e estáveis ao calor e podem continuar presentes nos alimentos quando *S. aureus* está ausente. Vale ressaltar que *S. aureus* apresenta uma variedade de fatores de virulência que, isoladamente ou em combinação, podem resultar em infecção grave (ABEBE; GUGSA; AHMED, 2020). Os sintomas aparecem rapidamente algumas horas após a ingestão e incluem náuseas, vômitos, diarreia e dor abdominal (SERGELIDIS; ANGELIDIS, 2017).

Além disso, estima-se que a morte de quase 23.000 pessoas por ano nos Estados Unidos seja causada por bactérias resistentes a antimicrobianos, incluindo cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), responsáveis por quase metade dessas fatalidades, estimativas indicam que entre 2010 a 2030 o consumo global de antimicrobianos na pecuária aumente em dois terços, e que dobrará no Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul, o que pode piorar o quadro de resistência antimicrobiana na cadeia de alimentos (PÉREZ *et al.*, 2020).

A bactéria *Salmonella* spp. tem uma grande importância em DTAs tendo sua transmissão principalmente relacionada a animais e produtos de origem animal que são consumidos pelos seres humanos, sendo microrganismos que conseguem sobreviver congelados por um longo período de tempo (SANTOS *et al.*, 2020). Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp. é um bacilo Gram-negativo (NAIR; VENKITANARAYANAN; JOHNY, 2018), e é um dos patógenos alimentares mais comuns em todo o mundo, com mais de 2600 sorotipos identificados (MAKA; POPOWSKA, 2016). O pH para crescimento pode variar de 4 a 9, sendo o ideal para reprodução em torno de 7, a temperatura para crescimento varia de 5 a 45°C, com temperatura ótima em 37°C (SANTOS *et al.*, 2020).

O gênero *Salmonella* é classificado atualmente em duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. A espécie *S. enterica* inclui os sorovares patogênicos para o homem, entre eles destaca-se *S. Typhimurium*, frequentemente associado às infecções alimentares e surtos de salmonelose, ovos e produtos à base de carne e frango são os alimentos mais frequentes envolvidos nesses surtos. Diversas espécies animais podem servir de reservatório para *S. Typhimurium*, proporcionando sua constante eliminação no meio por animais infectados assintomáticos. Assim, sua disseminação

entre espécies de animais destinadas à produção de alimentos representa um grande risco de contaminação da cadeia alimentar (CARVALHO, 2017).

A cada ano, bactérias do gênero *Salmonella* causam cerca de 93,8 milhões de casos de gastroenterite aguda em todo o mundo e 155.000 mortes em humanos. A maioria desses casos de gastroenterite aguda (aproximadamente 80,3 milhões de casos) é atribuída a alimentos contaminados (AL-RIFAI *et al.*, 2020). A sintomatologia aguda da infecção por *Salmonella* inclui: dor abdominal, diarreias (em algumas situações com presença de sangue), calafrios, desidratação, exaustão, febre, cefaleia e vômitos; podendo evoluir para quadros de artrite reativa e Síndrome de Reiter, caso a infecção se torne crônica (CARNEIRO; COSTA, 2020). Para evitar este tipo de contaminação, medidas preventivas e boas práticas de manejo e industrialização da carne devem ser seguidas com controle e rigor, afim de assegurar a qualidade sanitária dos produtos avícolas, são utilizados ácidos orgânicos, probióticos, desinfetantes e vacinas.

Escherichia coli, um bacilo Gram-negativo, que pertence à família *Enterobacteriaceae* (GOMES *et al.*, 2016), presente na flora natural do intestino de humanos e outros animais. A maioria das bactérias *E. coli* são consideradas inofensivas para os humanos, no entanto, certas cepas patogênicas podem infectar a área intestinal e causar diarreia e doenças graves (WASIŃSKI, 2019), sendo transmitidas principalmente aos humanos através do consumo de alimentos contaminados, como produtos de carne crus ou mal cozidos, leite cru ou não pasteurizado e laticínios, etc (BARLAAM *et al.*, 2019).

O grupo de *E. coli* classificada como diarreiogênica (DEC) é capaz de causar diarreia, principalmente pela contaminação por alimentos e água, sendo subdivido em patótipos: *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), que produz enterotoxinas sem penetrar nas células da mucosa intestinal, *E. coli* produtora de shiga-toxina (STEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) produtora de toxinas, que consegue penetrar nas células da mucosa intestinal, *E. coli* enteropatogênica (EPEC) que atua na redução do potencial de absorção do intestino e na concentração de eletrólitos nesse ambiente, causando diarreia e *E. coli* enteroagregativa (EaggEC) (DANIELSKI, 2018).

O patótipo STEC pode ser caracterizado em subgrupos: STEC O157: H7 e não-O157 STEC (todos os outros serogrupos) (MARSHALL *et al.*, 2020), mais de 100 sorotipos diferentes de STEC foram associados a doenças em humanos porém o sorotipo O157: H7 é o mais frequentemente envolvido em surtos. As estimativas dos

Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) mostram que *E. coli* O157: H7 transmitida por alimentos é responsável por mais de 63.000 doenças por ano, levando a mais de 2.100 hospitalizações e 60 mortes nos Estados Unidos. No Brasil, não há relatos de surtos confirmados de transmissão alimentar envolvendo STEC, embora casos esporádicos de infecções tenham sido descritos na literatura (DE ASSIS *et al.*, 2021).

3.2 Conservantes naturais

Os conservantes são considerados aditivos alimentares e podem possuir atividade antimicrobiana e antioxidante (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2015). O controle da contaminação e/ou deterioração dos alimentos causada por alguns microrganismos, é comumente realizado através de conservantes químicos. No entanto, estes conservantes são conhecidos por trazer risco a saúde humana e o meio ambiente, com isso, a demanda do consumidor por alimentos minimamente processados e que não incluem aditivos artificiais faz com que seja necessária a busca por novas fontes naturais de conservantes (TKACZEWSKA, 2020).

As principais vantagens da aplicação de conservantes naturais são sua biodegradabilidade, alto nível de biossegurança, amplo espectro e propriedades não acumulativas (TAYEL *et al.*, 2018). Conservantes naturais com características antioxidantes e antimicrobianas podem ser originados de fontes microbianas, animais ou vegetais (BAPTISTA; HORITA; SANT'ANA, 2020). Diversos estudos têm empregado compostos naturais em substituição aos conservantes artificiais, especificamente visando ação antimicrobiana, como por exemplo o uso de extratos de plantas (TAYEL *et al.*, 2018), óleos essenciais (SILVA *et al.*, 2019) e polifenóis, que já demonstraram atividade antimicrobiana frente a diversas bactérias (SILVA *et al.*, 2019).

Esses compostos têm a capacidade de interagir com moléculas-alvo e interferirem nas funções das células de microrganismos com mecanismos antimicrobianos principalmente gerando modificações nas propriedades da membrana citoplasmática e no metabolismo energético além de inibirem a síntese de ácidos nucleicos (BARROS, 2020).

3.3 Curcumina

A *Curcuma longa* L. (Família Zingiberaceae) rizoma com o nome comum de açafrão, é uma antiga especiaria da Ásia, como principal fonte de curcumina, é tradicionalmente usada pela população com fins medicinais. A curcumina constitui um dos principais fitoquímicos da planta, é um composto polifenólico de coloração amarela e tem se tornado objeto de pesquisas por todo o mundo devido a sua variedade de atividades biológicas (MOGHADAMTOUSI *et al.*, 2014). A curcumina constitui um dos principais fitoquímicos da planta, é um composto polifenólico de coloração amarela e tem se tornado objeto de pesquisas por todo o mundo devido a sua variedade de atividades biológicas (MOGHADAMTOUSI *et al.*, 2014), considerado um medicamento natural e não tóxico, tem aplicação promissora devido a suas atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antibacterianas (LIAO *et al.*, 2018), sendo efetiva tanto contra bactérias Gram-positivas como: *S. aureus*, *S. epidermidis* e *Enterococcus* spp. quanto contra bactérias Gram-negativas como: *S. Typhimurium* e *E. coli* (RAI *et al.*, 2008).

A curcumina pode inibir o crescimento bacteriano, atuando sobre a membrana celular, proteínas, DNA e outras estruturas celulares bacterianas, ou inibindo o crescimento bacteriano através do sistema *quorum sensing* (ZHENG *et al.*, 2020). Apesar de apresentar vários efeitos benéficos, a curcumina apresenta baixa solubilidade em água (SATHIYABAMA; INDHUMATHI; AMUTHA, 2020), dessa forma, formulações de curcumina nanoencapsulada, estão sendo prospectadas para diminuir sua hidrofobicidade e aumentar a solubilidade e biodisponibilidade (MIRZAHOSSEINIPOUR *et al.*, 2020).

3.4 Nisina

Como agentes antimicrobianos naturais, as bacteriocinas são uma alternativa atraente aos conservantes químicos, são incolores, inodoras e insípidas, podendo ser incorporadas a produtos alimentícios sem alterar suas propriedades organolépticas (SOLTANI *et al.*, 2021). As bacteriocinas são geralmente descritas como peptídeos ribossomais ou proteínas sintetizadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

que inibem ou matam outros microrganismos (CUI *et al.*, 2021), sendo classificadas conforme o tipo de parede celular dos organismos produtores (Gram-negativos e Gram-positivos) (ZIMINA *et al.*, 2020).

Algumas cepas de *Lactococcus lactis* subsp. *laticus* produzem nisina, uma bacteriocina classe I (KHELISSA; CHIHIB; GHARSALLAOUI, 2021), que possui a capacidade de inibir o crescimento de muitas bactérias patogênicas, a adsorção de moléculas de nisina na superfície da bactéria causando rompimento da membrana plasmática é seu principal mecanismo de atividade antimicrobiana (BAHRAMI *et al.*, 2019). A nisina apresenta excelente atividade contra diversas bactérias Gram positivas, como *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* e *Bacillus cereus*. Porém, é inofensiva a saúde humana, sendo geralmente reconhecida como segura (*Generally Recognized as Safe*, GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos, e amplamente utilizada ao redor do mundo sendo permitida em alimentos a um nível máximo de 250 ppm (SANTOS *et al.*, 2018).

Sua atividade antimicrobiana é amplamente dependente de sua solubilidade aquosa e estabilidade estrutural, que por sua vez dependem do pH e da temperatura, a sua aplicação pode muitas vezes ser limitada por sua solubilidade variável devido às interações com componentes alimentares (como proteínas e lipídios). Além disso, sua baixa atividade em pH alto limita o seu uso em certas matrizes alimentares, por isso vários pesquisadores buscam combinar a nisina com outros agentes antimicrobianos a fim de se obter uma atividade otimizada (KHELISSA; CHIHIB; GHARSALLAOUI, 2021).

3.5 Encapsulação de compostos bioativos: curcumina e nisina

A nanotecnologia é a revolução tecnológica do século 21 em muitas áreas de pesquisa, devido as suas notáveis propriedades estruturais, morfológicas e magnéticas (KUMAR *et al.*, 2020), envolve a fabricação, processamento e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas controlando a forma e o tamanho em escala nanométrica (BOUWMEESTER *et al.*, 2009). Desde a década de 1980, essa tecnologia gerou inovações em setores científicos e industriais, incluindo a indústria

de alimentos (KUANG *et al.*, 2020), diferentes tipos de nanomateriais são utilizados, como nanopartículas, *nanoclays* e nanoemulsões (DASGUPTA *et al.*, 2015-).

Os sistemas de nanoencapsulação fornecem uma alta área de superfície em comparação com partículas grandes, portanto, eles têm melhores propriedades funcionais, como alta solubilidade, alta adsorção e liberação controlada (BAHRAMI *et al.*, 2020). Os nanomateriais apresentam propriedades únicas e são considerados como potenciais agentes com ampla aplicação na indústria alimentícia e nos setores agrícolas, por isso, diversos produtos baseados em nanomateriais já estão disponíveis no mercado (KUMARI; YADAV; YADAV, 2020).

Diferentes técnicas, incluindo dessolvatação, coacervação, emulsificação, nanoprecipitação, nano secagem por pulverização, automontagem, *electrospraying*, *salting out* e *cross-linking* têm sido usadas para produzir nanopartículas. A escolha do método de preparação depende de diferentes aspectos como as propriedades físico-químicas do encapsulante empregado como nanocarreador, bem como das características das moléculas bioativas que serão nanocapsuladas (MOHAMMADIAN *et al.*, 2020).

As atividades antioxidante, anti-escurecimento e antimicrobiana de ingredientes bioativos obtidos de ervas e especiarias são atribuídas à presença de componentes bioativos primários, nomeadamente flavonóides, lignanos, terpenóides, polifenólicos, carotenóides, sulfuretos, curcuminóides, saponinas, cumarinas e esteróis vegetais (HOSSEINI; JAFARI, 2020). A aplicação de diferentes compostos bioativos através de nanoencapsulamento tem sido amplamente discutida, como uma alternativa de extensão da vida de prateleira de produtos alimentícios.

A escolha do método de encapsulamento apropriado é um fator importante que deve ser considerado no processo de nanoencapsulação. Técnicas como *spray drying*, coacervação complexa e aprisionamento lipossomal são comuns para encapsulação de peptídeos antimicrobianos, sendo o nano-lipossoma o sistema de encapsulação mais popular para encapsulação da nisina (BAHRAMI *et al.*, 2019). Uma ampla gama de técnicas pode ser aplicada para atingir o encapsulamento adequado da curcumina, e cada abordagem tem vantagens exclusivas, desenvolvimento de lipossomas, hidrogéis sensíveis ao pH, microemulsões, micelas poliméricas e não poliméricas. A popularidade dos materiais nanoestruturados se deve principalmente à versatilidade dessas técnicas em relação aos encapsulantes

que podem ser utilizados, assim como à possibilidade de incorporar pequenas modificações nos procedimentos de encapsulamento (SILVA *et al.*, 2018).

O método de dispersão sólida tem sido amplamente utilizado para superar os problemas associados à curcumina. Ao contrário dos métodos de modificação química, a dispersão sólida é relativamente fácil de preparar, com maior capacidade de carga e estabilidade. Também é escalonável e econômico, o que torna este método particularmente atraente na indústria (LI *et al.*, 2015).

As técnicas de nanoencapsulação podem melhorar a capacidade antimicrobiana e antioxidante de compostos fenólicos, como a curcumina, porque fornecem liberação sustentada, boa estabilidade, solubilidade aprimorada em meios aquosos para bioativos, levando, portanto, a promover sua funcionalidade e bioatividade sem qualquer alteração considerável na qualidade e nas propriedades sensoriais dos alimentos (RAFIEE *et al.*, 2019). Em seu estudo, Karimi *et al.* (2018) desenvolveram carreadores lipídicos nanoestruturados carregados de curcumina, e verificaram que a atividade antioxidante e antibacteriana contra bactérias Gram-negativas das nanopartículas foram melhores quando comparadas com o extrato de cúrcuma livre. Gao *et al.* (2020), verificaram que atividade antibacteriana da curcumina foi potencializada após a nanoencapsulação, apresentando melhor atividade tanto contra bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas.

A nisina quando utilizada em alimentos, tem sua ação influenciada por muitos fatores, a sua ligação/interação com os componentes da matriz alimentar pode reduzir a eficácia da nisina e, portanto, diminuir a estabilidade dos alimentos, além disso, o uso de nisina em sua forma livre se mostra menos eficaz devido à sua degradação por enzimas (KHAN; OH, 2016). Através da encapsulação é possível garantir a preservação, melhor biodisponibilidade e estabilidade de compostos bioativos (CHOPDE *et al.*, 2020). Em seu trabalho Pradeepa; Udaya Bhat & Vidya (2017) verificaram que a nisina encapsulada apresenta uma atividade antimicrobiana significativamente melhor que a nisina livre, resultados semelhantes foram apontados por Cui *et al.* (2017), Khan *et al.* (2018) e Bernela *et al.* (2014). Na Tabela 1 é possível visualizar estudos que realizaram a nanoencapsulação de nisina e curcumina através de diferentes métodos e determinaram as concentrações necessárias destes compostos para uma atividade antibacteriana.

Tabela 1–Nanoencapsulação de Nisina e de Curcumina para avaliação de atividade antibacteriana.

Compost	Técnica de encapsulação	Material encapsulante/surfactante	Bactéria testada	Concentrações que apresentaram efeito antibacteriano	Referência
Nisina	Método de complexação	Nanocristais de celulose bacteriana	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	2 mg/mL e 2,5 mg/mL	Gedarawatte <i>et al.</i> (2021)
	Biosíntese de nanopartículas de ouro	Como agente funcionalizante em nanopartículas de ouro	<i>Staphylococcus aureus</i>	39,0 U/mL 78,1 U/mL 156.2 U/mL 312.5 U/mL	Pradeepa <i>et al.</i> (2017)
	Método de auto-montagem	Ácido poli-g-glutâmico e quitosana	<i>Listeriamonocytogenes</i>	5 mg/mL	Cui <i>et al.</i> (2017)
	Reticulação iônica	Ácido fumáricomonometilado/ quitosana	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeriamonocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7 e <i>Salmonella</i> spp.	990 IU/mL	Khan <i>et al.</i> (2018)
	Método de pré-gelificação iônica	Alginato de Sódio, quitosana e Pluronic F68	<i>Micrococcus luteus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella entérica</i> e <i>Enterobacter aerogenes</i>	0,5 mg/mL 1 mg/mL 1,5 mg/mL	Bernela <i>et al.</i> (2014)
	<i>Spray drying</i>	Goma arábica	<i>Listeriamonocytogenes</i> , <i>Bacillus cereus</i>	0,25mg/L 0,5 mg/L	Martinez <i>et al.</i> (2016)
Curcumina	Moagem úmida	(-)*	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100 µg/mL 75 µg/mL 250 µg/mL 200 µg/mL	Bhawana <i>et al.</i> (2011)
	Microemulsificação	Pluronic F127 e Tween 80	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,86 µg/mL (50% de inibição)	Liu; Huang, (2012)
	Emulsão	Amido poroso e gelatina	<i>Escherichia coli</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i>	250 µg/mL 62,5 µg/mL e 125 µg/mL	Wang <i>et al.</i> (2009)
	Atomização eletrohidrodinâmica	Gelatina	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeriamonocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella entérica</i>	5 mg/mL	Gómez-Estaca <i>et al.</i> (2017)
	Dispersão de solução aumentada por CO ₂ supercrítico	(-)*	<i>Staphylococcus aureus</i>	250 µg/mL	Xie <i>et al.</i> (2015)
	Moagem úmida	(-)*	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	0,5 mg/mL	Gopal; Muthu; Chun(2016)
Homogeneização de alto cisalhamento	Compritol, miglyol e poloxamer	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> ,	30 mg/mL 2.5 mg/mL 40 mg/mL	Karimi <i>et al.</i> (2018)	

		<i>Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>Streptococcus mutans</i>	30 mg/mL	
Emulsão	Triglicerídeo de cadeia média e Tween 80	<i>Escherichia coli,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Staphylococcus faecalis,</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0 mg/mL	Asabuwa <i>et al.</i> (2018)
Método de deslocamento de solvente	PLGA, Poloxamer 188 e Triglicerídeo de cadeia média	<i>Escherichia coli,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Salmonella,</i> <i>Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>Bacillus sonorensis,</i> e <i>Bacillus licheniformis</i>	100 µg/mL 75 µg/mL	Gao <i>et al.</i> (2020)

(FONTE: Aatoria própria). * A técnica de moagem a úmido não utiliza encapsulantes ou surfactantes, uma vez que o tratamento reduz o tamanho dos agregados insolúveis do composto, gerando uma dispersão com partículas suspensas de forma estável no solvente (água). O mesmo ocorre na técnica de Dispersão de solução aumentada por CO₂ supercrítico.

3.6 Encapsulante e surfactante: Tween 80 e polivinilpirrolidona (PVP)

Os surfactantes são compostos orgânicos que contêm grupos polares hidrofílicos e grupos não polares hidrofóbicos. As moléculas de surfactante também são capazes de melhorar a estabilidade dos nanomateriais por meio de forças repulsivas de eletricidade estática, impedimento estérico e força de Van der Waals, absorvendo na superfície do nanomaterial (BEKHIT *et al.*, 2020).

Os polissorbatos são surfactantes anfipáticos não iônicos compostos de ésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitano (KERWIN, 2008), dentre eles o polissorbato 80 (Tween 80) é um dos surfactantes não iônicos sintéticos mais populares, amplamente utilizado na indústria farmacêutica alimentícia e cosmética (DU *et al.*, 2018).

O uso de encapsulantes em dispersões coloidais permite regular o crescimento, a aglomeração e as características físico-químicas das nanopartículas de maneira precisa. Um encapsulante consiste em uma molécula anfifílica que compreende um grupo de cabeça polar e uma cauda de hidrocarboneto não polar. Diferentes tipos de encapsulantes são utilizados na síntese de nanopartículas, incluindo surfactantes, pequenos ligantes, polímeros, dendrímeros, ciclodextrinas e polissacarídeos (JAVED *et al.*, 2020).

A polivinilpirrolidona (PVP), também chamada de Povidona, pode ser utilizada como encapsulante, sendo um polímero sintético obtido por polimerização do monômero, N-vinilpirrolidona. O PVP é atóxico, não iônico, inerte, resistente à temperatura, estável ao pH, biocompatível e mostra uma afinidade complexa para drogas hidrofílicas e hidrofóbicas. O PVP tem propriedades físico-químicas que o tornam adequado para uso em diferentes campos, como farmacêutico, biomédico, cosmético e na indústria alimentícia (KURAKULA; RAO, 2020).

Tendo em vista as informações apresentadas na revisão bibliográfica, ainda são necessários maiores esforços para a avaliação do efeito do uso conjunto de curcumina nanoencapsulada por dispersão sólida e nisina, além de uma avaliação do efeito da coencapsulação destes dois compostos na atividade antibacteriana dos mesmos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

No trabalho foram utilizados curcumina (do pó de *Curcuma longa* L., ≥65%, Sigma-Aldrich), polivinilpirrolidona (PVP, 40,000 g.mol⁻¹, Sigma-Aldrich), Tween 80 (Dinâmica, Diadema, SP, Brasil), etanol (99,5%, Neon, Suzano, SP, Brasil), nisina (2,5% Sigma-Aldrich), caldo BHI (Sigma-Aldrich), caldo e ágar Mueller Hinton (Biomark), KBr (grau espectroscópico, Sigma Aldrich), grids de cobre recobertos com formar/filme de carbono (300 mesh, Electron MicroscopySciences). Glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato 0,1M, poli-L-lisina (Sigma-Aldrich).

4.2 Microrganismos

As cepas de *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), foram armazenadas em ágar Mueller Hinton (MHA) em freezer -14 °C foram obtidas do Laboratório de Microbiologia da UTFPR-CM. Para a reativação microbiana, uma alíquota de 10 µL, de cada bactéria foi inoculada em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubada por 24 horas a 37 °C. Após a turvação do meio, realizou-se semeadura por esgotamento em ágar específico de cada bactéria (Hektoen, Baird Parker e EMB, para *S. Typhimurium*, *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente) sendo incubado novamente por 24 horas a 37 °C. Após este período, 3 colônias de cada bactéria foram inoculadas em caldo Mueller Hinton e incubadas por 6 horas a 37 °C para a realização dos testes.

4.3 Síntese das nanopartículas

A metodologia para síntese das nanopartículas de curcumina e coencapsulação da curcumina com nisina por dispersão sólida usando PVP como encapsulante foi desenvolvida conforme descrito por Almeida *et al.* (2018) com algumas modificações. Para as nanopartículas contendo curcumina (NCur) inicialmente, PVP (100 mg) e Tween 80 (10 mg) foram dissolvidos em etanol (30 mL) sob agitação magnética até obtenção de uma solução translúcida. Depois disso, a

curcumina (10 mg) foi adicionada a esta solução, permanecendo em homogeneização por 5 min. A mistura foi então sonicada durante 5 min sob condição de pulso (30 s ligado / 10 s desligado) a 120 W e usando uma ponteira de 1/8" (Fisher Scientific, Loughborough, UK) sob temperatura controlada com banho de gelo. Finalmente, o solvente foi evaporado em estufa de circulação de ar (Cienlab, Campinas, SP, Brasil) a 40°C por 24h e o sólido resultante recuperado e moído com pistilo e gral.

Para coencapsulação da nisina e curcumina o mesmo procedimento foi utilizado, sendo a nisina (13,6 mg) adicionada na mesma etapa que a curcumina (10 mg). Neste procedimento foram utilizados 100 mg de PVP e 10 mg de Tween 80 e 30 mL de etanol absoluto visando garantir a encapsulação de ambos os compostos. A proporção entre curcumina e nisina foi definida a partir dos resultados dos testes de sinergismo (item 4.6).

4.4 Caracterização das nanopartículas

As amostras testadas para análises de caracterização das nanopartículas foram as nanopartículas NCur e NCurNis, o PVP puro, a nisina pura, a curcumina pura, misturas físicas de curcumina e PVP (MFCurPVP), assim como misturas físicas de curcumina, nisina e PVP (MFCurNisPVP).

As amostras avaliadas para caracterização de térmica (TGA, Análise Termogravimétrica, *Thermogravimetric Analysis*) e DSC, Calorimetria Diferencial de Varredura, (*Differential Scanning Calorimetry*) e de interação entre os componentes das nanopartículas (FTIR, Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier, (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) estão relacionadas na Tabela 2.

Para o ensaio de FTIR foi utilizado um espectrômetro Shimadzu IR AFFINITY-1, visando investigar a interação entre o polímero PVP, a nisina e a curcumina. que foram dispersas em brometo de potássio (KBr) e então pelletizadas com auxílio de um pastilhador e prensa hidráulica. Os espectros de FTIR foram coletados pelo modo de transmissão, de 400 a 4.000 cm^{-1} , com 32 acumulações e resolução de 4 cm^{-1} .

As análises de TGA e DSC foram realizadas em analisador térmico simultâneo (STA 6000, PerkinElmer, EUA). As amostras (de 8 a 10 mg) foram acondicionadas em

porta amostra de platina e aquecidas até 600 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e atmosfera de nitrogênio (50 mL min⁻¹).

Tabela 2- Amostras utilizadas para caracterização das nanopartículas por DSC, TGA e FTIR.

Amostra	Composição	Forma de preparo
PVP	PVP puro	-
Curcumina	Curcumina pura	-
Nisina	Nisina pura	-
NCur	Nanopartículas de curcumina encapsulada em PVP	Dispersão sólida para encapsulação de curcumina no encapsulante PVP
MFCurPVP	Mistura física de curcumina e PVP	Mistura de curcumina pura e PVP puro com pistilo e almofariz
NCurNis	Nanopartículas de curcumina e nisina encapsuladas PVP	Dispersão sólida para encapsulação de curcumina e nisina (em conjunto) no encapsulante PVP
MFCurNisPVP	Mistura física de curcumina, nisina e PVP	Mistura de curcumina pura, nisina pura e PVP puro com pistilo e almofariz

Fonte: Autoria própria.

A morfologia das nanopartículas foi avaliada por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM, Jeol JEM 2100, 200 kV). Logo após a produção das nanopartículas, uma amostra da solução foi gotejada em grades de cobre revestidas com formar/filme de carbono (300 mesh). As grades foram mantidas em dessecador com sílica até o momento da análise.

O tamanho médio em intensidade (Dz, nm) e o índice de polidispersão (PDI, adimensional) das nanopartículas foi determinado por DLS (*Dinamic Light Scattering*) em um instrumento Malvern Zetasizer – Nano Series. As amostras previamente secas, foram diluídas em água (0,1%p/v) e analisadas em seguida em triplicata. Os resultados foram submetidos ao teste-t de Student ($p < 0,05$).

4.5 Determinação das Concentrações Inibitória Mínima e Bactericida Mínima

Para a avaliação microbiológica foi utilizado o método de microdiluição em caldo estabelecido pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2019). Foram utilizadas as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *S. Typhimurium*, para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), as suspensões bacterianas foram padronizadas de acordo com a escala de 0,5 McFarland e diluídas em solução salina a 0,85% para obtenção de 5×10^5 UFC.mL⁻¹. Foram adicionados 100 µL de amostra com concentração inicial de 100 mg/mL de nanopartículas; 2 mg/mL de nisina pura ao caldo Mueller Hinton, diluídas em cada poço dos 96 poços da placa. Uma alíquota de 10µL da suspensão bacteriana, foi então inoculada em cada poço e incubada a 37 °C por 24 h em estufa de cultura bacteriológica (FANEM, 002CB).

A CIM foi definida como a menor concentração que inibiu visualmente o crescimento bacteriano. No caso da Concentração Bactericida Mínima (CBM), uma alíquota de 20 µL dos poços em que não houve crescimento microbiano detectado (no ensaio CIM) foi transferido para uma Placa de Ágar Mueller Hinton. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h, e a CBM foi definida como a menor concentração que não permitiu o crescimento bacteriano. Todos os testes foram realizados em triplicata.

4.6 Determinação da interação antibacteriana entre nisina e curcumina nanoencapsulada

O ensaio foi realizado determinando a concentração inibitória fracional (CIF) em caldo MHB, usando o método de microdiluição em um esquema xadrez em placas de microtitulação (CLSI, 2019), utilizando curcumina e nisina em concentrações seriadas. As suspensões bacterianas foram preparadas para produzir inóculos finais de 5×10^5 UFC/mL. As placas foram lidas após incubação em estufa a 35°C por 24 horas. O CIF foi calculado da seguinte forma:

$$CIF_A = \frac{CIM_A \text{ combinação}}{CIM_A \text{ isolado}} \quad (1)$$

$$CIF_B = \frac{CIM_B \text{ combinação}}{CIM_B \text{ isolado}} \quad (2)$$

$$CIF = CIF_A + CIF_B \quad (3)$$

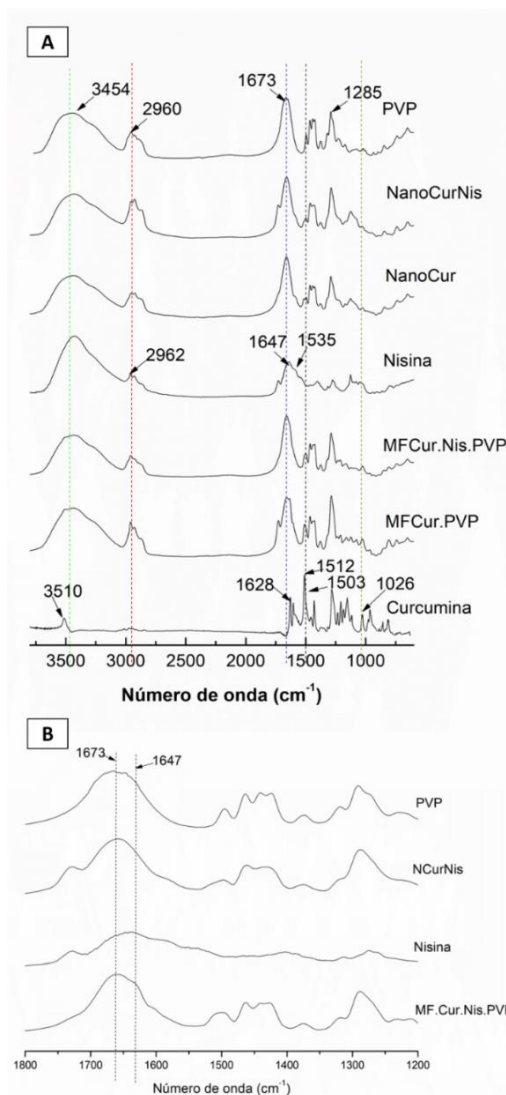
O valor CIM A+B é o MIC do composto A na presença do composto B, e vice-versa para MIC B+A. Os resultados devem ser interpretados como sinergismo ($CIF < 0,5$), adição ($0,5 \leq CIF \leq 1$), indiferença ($1 < CIF \leq 4$) ou antagonismo ($CIF > 4$) de acordo com Doern (2014).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 FTIR

As nanopartículas foram caracterizadas por FTIR para verificar a interação entre os compostos encapsulados e o encapsulante, sendo os resultados apresentados na Figura 1.

Figura 1- Espectros de FTIR: (A) Curcumina, nisina e PVP puros, Misturas físicas dos componentes das nanopartículas (MF.Cur.PVP; MF.Cur.Nis.PVP) e nanopartículas (NCur; NCurNis); (B) Detalhe da região entre 1800 e 1200 cm^{-1} para as amostras. PVP, Nisina, mistura física MF.Cur.Nis.PVP e nanopartículas de curcumina e nisina coencapsuladas.



Fonte: Autoria própria.

Na Figura 1 pode-se notar, no espectro da curcumina pura o grupo hidroxila (-OH) destacado na banda 3510 cm⁻¹. É possível verificar uma banda intensa em 1512 cm⁻¹ referente as duplas ligações entre carbonos (C=C) do anel aromático, outra banda em destaque aparece em 1026cm⁻¹ e é relacionada a ligações C-O-C de éteres. Em 1628 cm⁻¹ há uma banda característica de alcenos (C=C) e 1503 cm⁻¹ atribuída ao estiramento do grupo carbonila (C=O). Em 1429 cm⁻¹ a banda pode ser atribuída ao estiramento assimétrico -CH. Resultados similares foram reportados por Athira & Jyothi (2014), Hasan *et al.* (2016), Siregar; Martono; Rohman (2018).

Analisando o espectro da nisina pura, pode ser identificada a banda referente à tensão do grupamento C=O da amida primária (1647 cm⁻¹) e em 1535 a banda referente ao balanço das amidas primárias (Amida I) (VELÁZQUEZ-CARRILES *et al.*,

2020). Também em 2962 cm^{-1} a banda referente as vibrações do estiramento -CH (LUO *et al.*, 2019).

O PVP apresentou bandas características em 3454 cm^{-1} (estiramento -OH), 2960 cm^{-1} (estiramento assimétrico de -CH₂), 1285 cm^{-1} (balanço de -CH₂) e 1673 cm^{-1} (estiramento C=O) (ALI *et al.*, 2017; KAMARUDDIN *et al.*, 2017).

As nanopartículas contendo curcumina (NCur) apresentaram menor intensidade das bandas localizadas em 1026 cm^{-1} (linha amarela, C-O-C de éteres), 1512 cm^{-1} (linha preta, C=C do anel aromático) e 2692 cm^{-1} (linha vermelha, estiramento assimétrico de -CH₂), quando comparadas à mistura física (MF.Cur.PVP). Este efeito é resultado da cobertura do encapsulante sobre o encapsulado. Além disso, nota-se que a banda localizada na região de 3450 cm^{-1} possui menor intensidade bem como um estreitamento para a amostra NCur (LI *et al.*, 2013). Esse comportamento é indicativo de interação entre o encapsulante e o encapsulado por ligações de hidrogênio, princípio que é fundamental para a formação de nanopartículas pela técnica de dispersão sólida (KARAVAS *et al.*, 2006).

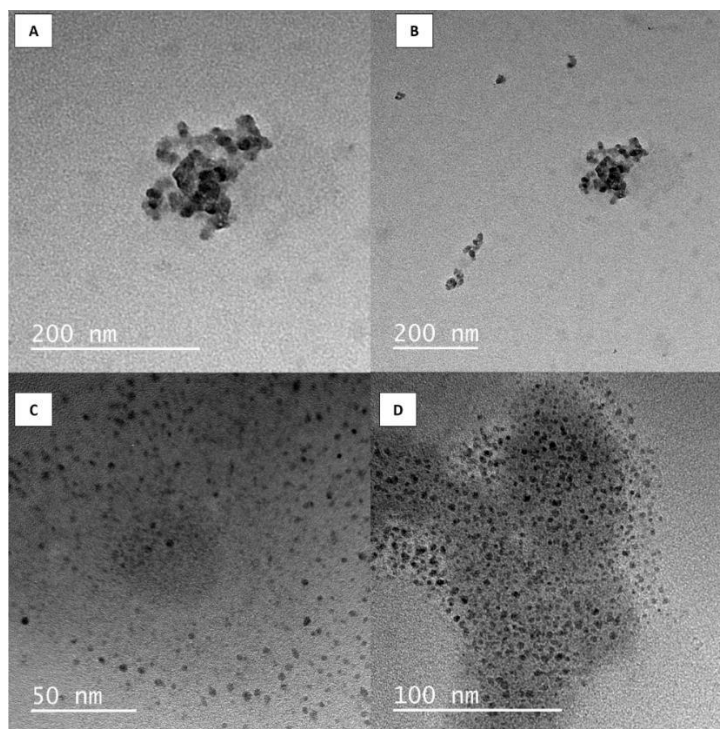
No caso das nanopartículas com curcumina e nisina coencapsuladas (NCurNis) a banda característica localizada em 1647 cm^{-1} (C=O da amida primária) foi sobreposta pela banda relativa ao estiramento C=O (linha azul, 1673 cm^{-1}) do PVP. Ainda assim é possível notar na mistura física (MF.Cur.Nis.PVP) a presença de ambas as bandas (ver detalhe na Figura 1 (B)), o que não ocorre nas nanopartículas, indicando interação entre os compostos pela nanoencapsulação (GOUDARZI *et al.*, 2018).

5.2 Microscopia eletrônica de Transmissão

As imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão, apresentadas na Figura 2, confirmam a formação de estruturas nanométricas, com morfologia próxima à esférica para as duas formulações (NCur e NCurNis). Para a amostra de NCur podem ser observados aglomerados de nanopartículas com aproximadamente 160 nm de diâmetro, sendo que as nanopartículas presentes no aglomerado possuem em torno de 12 nm. Já para as NCurNis não foram observados agregados de nanopartículas, e o tamanho das mesmas foi determinado entre 4 e 10 nm. Khan & Rathod (2014) produziram nanopartículas de curcumina utilizando como polímero o PVP obtendo tamanhos de partículas semelhantes ao tamanho determinado para o

aglomerado de NCur, em torno de 180 nm a 220 nm. Não há relatos na literatura sobre a nanoencapsulação de nisina em PVP para comparação dos resultados, contudo é possível verificar que houve a formação de nanopartículas e que estas apresentam uma distribuição de tamanhos homogênea.

Figura 2- Imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão: (A) e (B) NCur; (C) e (D) NCurNis.



Fonte: Autoria própria.

A análise de DLS resultou em valores de diâmetro médio em intensidade (D_z) de $609,8 \pm 28,3$ nm para as NCur e $507,3 \pm 19,7$ para as NCurNis, demonstrando uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0067$). Os resultados estão de acordo com o comportamento determinado nas imagens de MET, com tamanhos maiores determinados para as NCur. De acordo com Ito *et al.* (2004), freqüentemente há uma discrepância entre as medições de MET e DLS que é atribuída a fatores associados ao alto vácuo utilizados na MET e os efeitos hidrodinâmicos e eletrocinéticos que ocorrem nas medições de DLS. Ainda de acordo com Urban *et al.*, (2018) as técnicas baseadas em espalhamento de luz, com o DLS, possuem um limite de detecção que depende da sensibilidade da detecção de luz espalhada e de fatores como o índice

de refração do material, tamanho de partícula, sua forma e comprimento de onda usado para detecção.

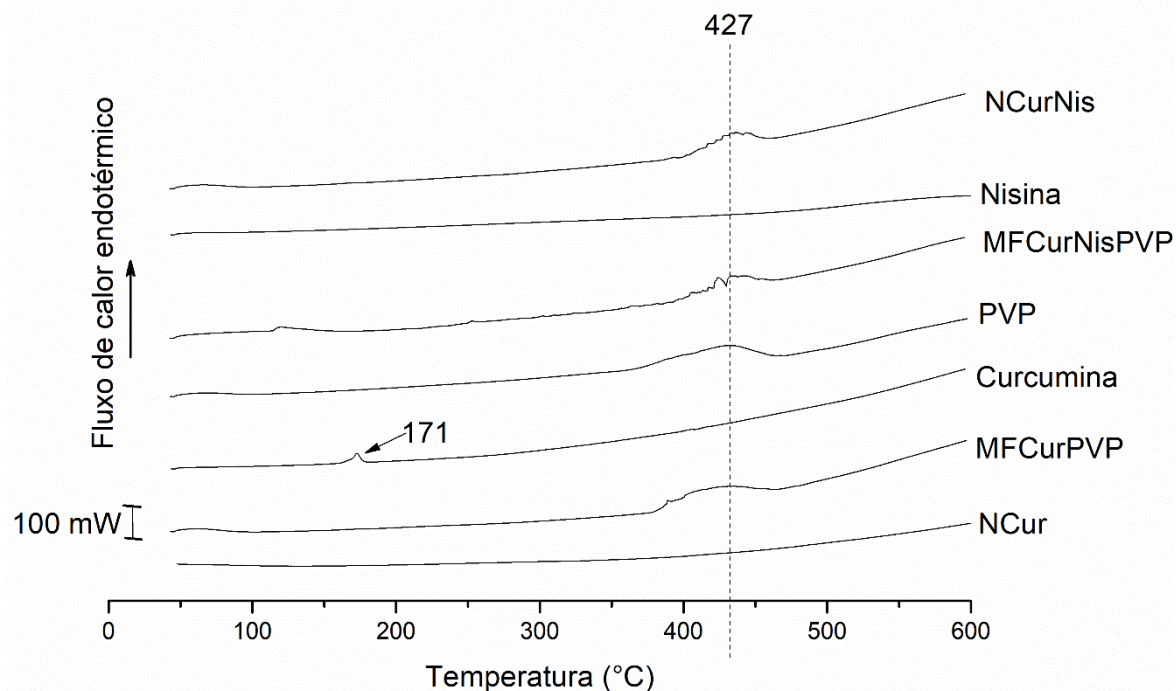
O PDI determinado para as amostras foi de $0,55 \pm 0,03$ e $0,67 \pm 0,02$ para NCurNis e NCur, respectivamente, apresentando uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0061$). Os resultados de PDI são um indicativo da largura da distribuição de tamanhos de partícula, quanto mais larga a distribuição mais polidispersa é a amostra (KASZUBA *et al.*, 2008; RAMOS, 2017). As NCur apresentaram maior variação de tamanhos, pois possuem um maior PDI.

5.3 Caracterização Térmica das Nanopartículas

A caracterização térmica das nanopartículas foi realizada por DSC e TGA. Os termogramas de DSC estão apresentados na Figura 3. Nota-se nos termogramas da curcumina pura um pico de fusão cristalina (*melting temperature*, T_m) com máximo em 171°C (LEMES *et al.*, 2017), e do PVP puro a degradação térmica com máximo em 427°C (VORONOVA *et al.*, 2018). Para a mistura física de curcumina e PVP (MFCurPVP) a temperatura máxima do pico de degradação ocorre no mesmo ponto. Nas nanopartículas de curcumina (NCur) tanto a T_m da curcumina, quanto a degradação do PVP não são detectadas. Este comportamento indica a formação da dispersão sólida onde os dois componentes (curcumina e PVP) estão completamente miscíveis e em forma amorfa (KARAVAS *et al.*, 2006), além de uma melhora na estabilidade térmica (LEMES *et al.*, 2017).

O termograma da nisina pura indica uma alta estabilidade térmica. Na literatura a temperatura de transição vítrea (T_g) da nisina é reportada na faixa do 30°C (NIAZ *et al.*, 2018), contudo não foi possível detectar este comportamento com as condições aplicadas na análise. Para a coencapsulação da curcumina e nisina, nota-se que tanto na mistura física (MFCurNisPVP) quanto nas nanopartículas (NCurNis) a degradação do PVP está presente, no mesmo ponto de temperatura. Possivelmente este resultado é efeito da baixa interação, ou dispersão não adequada dos encapsulados (nisina e curcumina) no encapsulante PVP (HE; YANG; TANG, 2010).

Figura 3-Termogramas de DSC da curcumina, nisina e PVP, misturas físicas (MF. Cur.PVP e MF.Cur.Nis.PVP) e nanopartículas (NCur e NCurNis).



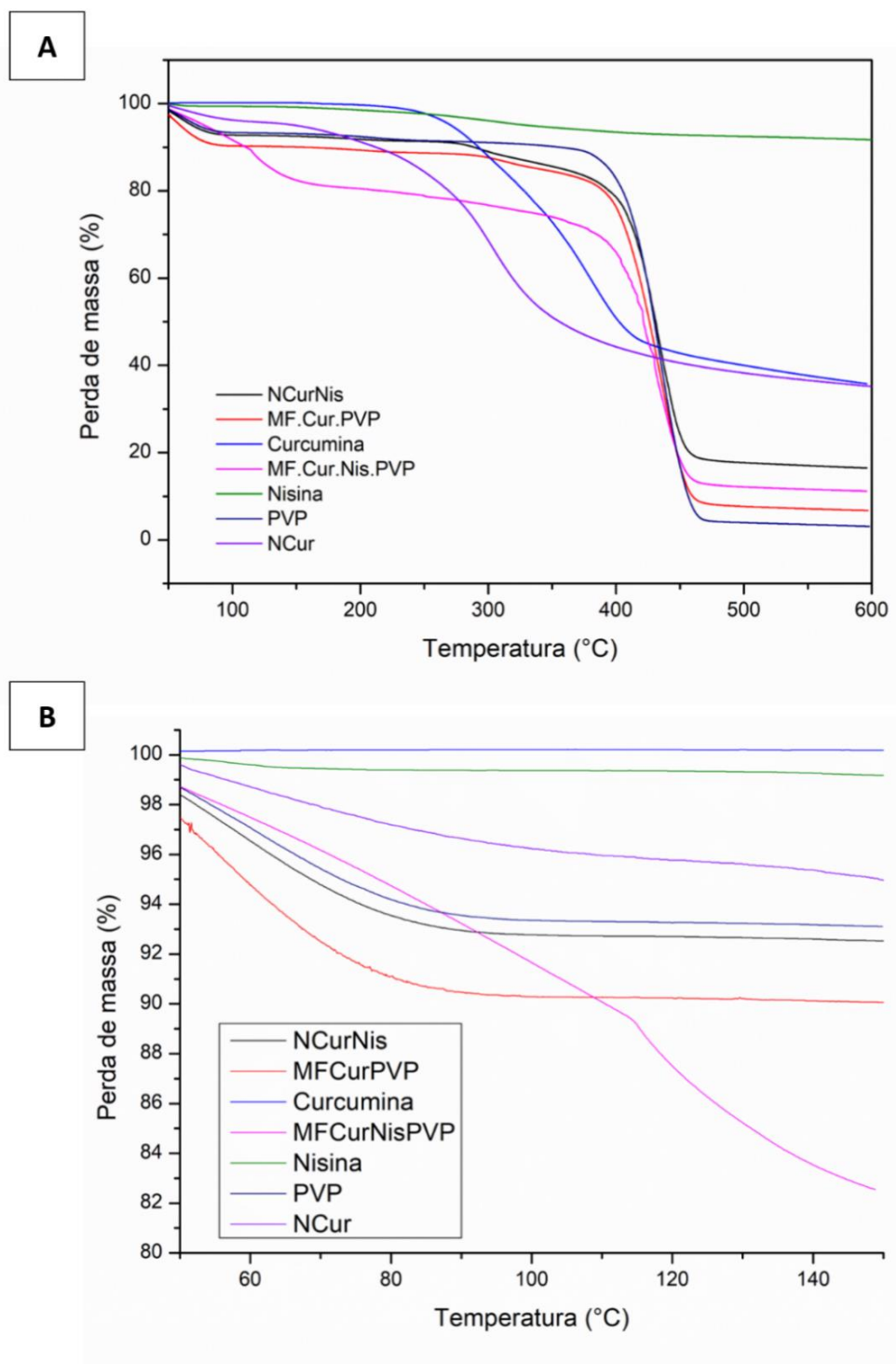
Fonte: Autoria própria.

As curvas de TGA obtidas para a curcumina, nisina, PVP, nanopartículas e misturas físicas podem ser visualizadas na Figura 4 e as temperaturas e respectivas perdas de massa (%) estão destacadas na Tabela 3.

A decomposição térmica da curcumina pura ocorre entre 250°C e 415°C. Resultados semelhantes foram encontrados por Rosa *et al.* (2021), que verificaram as faixas de decomposição térmica da curcumina entre 283°C e 363°C e também Almeida *et al.* (2018) com percentuais semelhantes de perda de massa (aproximadamente 50% a 700°C).

Com a Figura 4 (B), que apresenta o destaque da região das curvas até 150°C, nota-se que o PVP, as misturas físicas e as nanopartículas de curcumina e nisina coencapsuladas apresentam comportamento de perda de massa semelhantes. Este estágio inicial de perda de massa está associado à evaporação da água devido à natureza hidrofílica do PVP (MENG *et al.*, 2015). As misturas físicas apresentaram eventos de perda de massa primeiro próximo a 100°C, segundo próximo a 400°C e por fim próximo a 500°C. Já a nisina apresentou decomposição térmica em uma faixa de 200°C – 300°C resultado condizente com o encontrado por Niaz *et al.* (2018), que constataram um único pico de degradação térmica da nisina em 259°C.

Figura 4- (A) Curvas de TGA da Curcumina, nisina e PVP, misturas físicas (MF. Cur.PVP e MF.Cur.Nis.PVP) e nanopartículas (NCur e NCurNis); (B) Curvas de TG para região em destaque.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 3- Temperaturas associadas à perda de massa na análise de TG.

Amostra	Perda de massa inicial			Primeiro estágio de degradação			Segundo estágio de degradação			
	T _{on set} (°C)	T _{máx} (°C)	Perda de massa (%)	T _{on set} (°C)	T _{máx} (°C)	Perda de massa (%)	T _{on set} (°C)	T _{máx} (°C)	Perda de massa (%)	Perda de massa total (%)
PVP	-	65	8	370	434	87	-	-	-	95
Curcumina	-	-	-	250	287	11	330	380	31	42
Nisina	-	-	-	270	302	5	500	580	4	9
MFCurPV	-	79	10	373	436	82	-	-	-	92
P										
NCur	-	70	6	209	303	59	-	-	-	65
MFCurNis	-	116	12	360	430	76	-	-	-	88
PVP										
NCurNis	-	61	8	276	287	4	367	435	72	84

Fonte: Autoria própria.

A NCur e NCurNis apresentaram perda de massa entre 100°C-200°C, contudo, somente as NCurNis apresentaram uma segunda etapa próximo a 400°C. Este comportamento indica que não houve interação total entre o encapsulante e os encapsulados, no caso, curcumina e nisina (HE; YANG; TANG, 2010). Este resultado corrobora com a análise de DSC, apesar das imagens de MET indicarem formação de nanopartículas e a análise de FTIR indicar interações entre encapsulante e encapsulado, talvez isto não tenha acontecido para a totalidade de nisina e curcumina presentes na formulação.

5.4 Atividade antimicrobiana e sinergismo das nanopartículas e da nisina

Através das análises microbiológicas realizadas, verificou-se que tanto as nanopartículas de curcumina quanto a nisina (pura) apresentaram CIM menores contra a bactéria *S. aureus*, quando comparado as outras duas bactérias testadas (Tabela 4).

Tabela 4 –Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima da Nisina e das nanopartículas de PVP contendo curcumina.

Microrganismo	NCur		Nis	
	CIM (mg.mL ⁻¹)	CBM (mg.mL ⁻¹)	CIM (mg.mL ⁻¹)	CBM (mg.mL ⁻¹)
<i>SalmonellaTyphimurium</i>	6,25	6,25	1,00	1,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,75	0,75	0,50	1,00
<i>Escherichia coli</i>	3,12	3,12	0,50	2,00

Fonte: Aatoria própria.

Verificou-se que a nisina foi mais efetiva contra *S. aureus*, apresentando um CIM de 0,50 mg.mL⁻¹ e CBM de 1,00 mg.mL⁻¹, enquanto que o modo pelo qual a nisina é tão eficiente contra bactérias Gram-positivas se dá pelo fato de que ela atua permeabilizando a membrana bacteriana. Contra bactérias Gram-negativas, a nisina já foi reportada apresentando ruptura na membrana externa bacteriana, entretanto, as bacteriocinas produzidas por Gram-positivas não possuem ação bactericida contra Gram-negativas (FURLANETTO, 2020) contudo no presente trabalho, foram identificadas concentrações bactericidas para ambas bactérias Gram-negativas testadas (1,0 mg.mL⁻¹ para *S. Typhimurium* e 2,0 mg.mL⁻¹ para *E. coli*). Os valores de CIM da nisina frente a *S. aureus* encontrados, diferem de outros estudos, Shi *et al.*, (2017) verificaram um valor de CIM de 0,032 mg/mL e Zhao *et al.* (2014) encontraram valores que variaram de 0,0080 mg/mL a 0,064 mg/mL.

Vale destacar que no presente estudo a CIM da nisina frente *E. coli* e *S. aureus* foi a mesma, e em diferentes condições sua ação frente *E. coli* e *S. Typhimurium* pode ser melhorada, quelantes de metal podem desestabilizar e permeabilizar a membrana externa de bactérias Gram-negativas permitindo que a nisina alcance seu alvo na membrana citoplasmática bacteriana. A combinação de nisina e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), pirofosfatodissódico, hidrogenortofosfato de sódio, ácido cítrico ou ácido láctico pode inibir com eficiência o crescimento de bactérias Gram-negativas (GALVÁN MÁRQUEZ *et al.*, 2020).

Formulações de nanopartículas de curcumina e curcumina livre já apresentaram excelente atividade antimicrobiana contra a *S. aureus*, como já descrito por Taghavifar *et al.* (2020), que verificaram que nanopartículas de curcumina melhoraram feridas diabéticas infectadas com *S. aureus* MRSA (*S. aureus* resistente à metilicina) e Ma *et al.* (2020), que relataram uma excelente atividade antibiofilme de nanopartículas de curcumina contra a *S. aureus*.

No presente trabalho, as nanopartículas de curcumina tiveram melhor atividade antibacteriana contra *S. aureus*, o que difere do trabalho de Tyagi *et al.* (2015) que em seu estudo verificaram que a curcumina livre (pura), foi igualmente efetiva contra *S. aureus* e *Escherichia coli*, vale destacar que no presente trabalho a curcumina foi solubilizada em água enquanto no trabalho de Tyagi *et al.* ela foi solubilizada no solvente Dimetilsulfóxido, isso mostra que em condições reais a curcumina encapsulada possui melhor ação. Já Leyva-Diaz *et al.* (2020) avaliaram o impacto da suplementação dietética de curcumina em frangos infectados por *Salmonella Typhimurium*, relatando uma redução significativa na colonização intestinal, no presente trabalho tanto as nanopartículas de curcumina quanto a nisina tiveram atividade antibacteriana reduzida contra *Salmonella Typhimurium* quando comparada as outras duas bactérias testadas.

O efeito conjunto entre as nanopartículas contendo curcumina e a nisina foi avaliado frente aos três microrganismos e os resultados estão apresentados na Tabela 3. As nanopartículas apresentaram sinergismo com a nisina apenas quando testadas frente a *S. aureus* (Tabela 5).

Tabela 5 – Sinergismo entre atividade antibacteriana de Nisina (Nis – Composto A, 2 mg.mL⁻¹) e nanopartículas de PVP contendo curcumina (NCur – Composto B, 50 mg.mL⁻¹).

Sinergismo	CIM A	CIM B	CIF A + B	CIF B + A	CIF	Interpretação
<i>Salmonella</i>	2,00	6,25	2,00	1,56	1,26	Indiferença
<i>S. aureus</i>	0,06	0,75	0,02	0,01	0,26	Sinergismo
<i>E. coli</i>	1,00	6,25	0,06	6,25	1,06	Indiferença

Fonte: Autoria própria.

Zhao *et al.* (2017) destacam que a nisina apresenta um amplo espectro eficaz contra patógenos Gram-positivos e atividade bacteriostática contra esporos bacterianos, além de apresentar sinergismo com uma ampla gama de agentes antimicrobianos, dessa forma o uso em conjunto de nanopartículas de curcumina e nisina pode potencializar o efeito antibacteriano contra este tipo de microrganismo de ambos os componentes testados.

Takundwa *et al.* (2021) avaliaram a atividade antimicrobiana da nisina e do orégano combinados, e atribuíram o sinergismo ao pH ácido das soluções antimicrobianas, relatando que a acidificação foi facilitada tanto pela nisina quanto pelo óleo essencial de orégano, que apresentam um pH mais baixo quando combinados, resultando em uma melhor ação sinérgica contra *E. coli*. No presente trabalho, os testes antimicrobianos foram realizados utilizando caldo Mueller Hinton, que possui pH alcalino, o que causou impacto na atividade antimicrobiana da nisina.

A concentração de nisina e curcumina para a coencapsulação foi baseada nas concentrações encontradas no teste de sinergismo, para *S. aureus* sendo 13,6 mg/mL de nisina e 10 mg/mL de curcumina. Os valores CIM e CBM das NCurNis foram analisados, porém, não foi possível determinar os valores de CBM, tal situação pode ser atribuída ao fato de que os componentes não estavam tão miscíveis nas nanopartículas, como visualizado no DSC. Contudo, vale destacar que as NCurNis apresentaram CIM de 0,064 mg/mL evidenciando um melhor efeito inibitório, quando comparas as NCur e a nisina pura, isso demonstra a coencapsulação de curcumina e nisina é uma boa alternativa no desenvolvimento de nanocompostos antibacterianos.

6 CONCLUSÕES

Na caracterização térmica das amostras, constatou-se que o pico de degradação da mistura física de curcumina e PVP (MFCurPVP) ocorreram no mesmo ponto. A indicação de formação de dispersão sólida entre a curcumina e o PVP foi verificada, tanto as nanopartículas de curcumina (NCur) e a T_m da curcumina, quanto a degradação do PVP não foram detectadas, indicando que os componentes estão completamente miscíveis e em forma amorfa além de apresentarem uma melhora na estabilidade térmica. No caso das NCurNis as análises de DSC e TGA indicaram que não houve interação total entre o encapsulante e os encapsulados, contudo as imagens de MET indicarem formação de nanopartículas e a análise de FTIR indicaram interações entre os componentes das nanopartículas.

Verificou-se que a atividade antimicrobiana das nanopartículas de Curcumina e a Nisina apresentaram um bom desempenho frente as três bactérias utilizadas, porém, quando testadas frente *S. aureus*, o efeito antibacteriano de ambos compostos teve uma melhor atividade, além de apresentarem sinergismo.

Na coencapsulação, foi observado que entre o encapsulante e os encapsulados, no caso, curcumina e nisina, houve a formação de nanopartículas, visualizadas através das imagens de MET e os resultados de FTIR indicaram interações entre encapsulante e encapsulado, apesar da análise do DSC indicar que não houve uma encapsulação completamente estabelecida para a totalidade de nisina e curcumina presentes na formulação, as NCurNis demonstraram excelente atividade inibitória, se sobressaindo em relação a NCur e a nisina pura.

Tais resultados, demonstram que a curcumina nanoencapsulada e a nisina podem atuar juntas frente a microrganismos, assim como serem coencapsuladas para otimização de suas atividades antibacterianas, devendo-se realizar estudos complementares e em diferentes condições, para a avaliação de possível aplicação na indústria de alimentos.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Desta forma, sugere-se que estudos envolvendo a coencapsulação da curcumina e da nisina sejam realizados, visando otimizar a produção das partículas garantindo uma melhor eficiência antibacteriana. Além disso avaliar o uso de quelantes e ajustes de pH dos meios utilizados, para dessa forma, otimizar as ações de ambos encapsulados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens. **Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], v. 2020, 2020.
- AL-RIFAI, R. H.; CHAABNA, K.; DENAGAMAGE, T.; ALALI, W. Q. Prevalence of non-typhoidal Salmonella enterica in food products in the Middle East and North Africa: A systematic review and meta-analysis. **Food Control**, v. 109, n. May 2019, p. 106908, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106908>.
- ALI, I.; AKL, M. R.; MELIGI, G. A.; SALEH, T. A. Silver nanoparticles embedded in polystyrene-polyvinyl pyrrolidone nanocomposites using γ -ray irradiation: Physico-chemical properties. **Results in Physics**, v. 7, p. 1319–1328, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rinp.2017.03.028>.
- ALMEIDA, H. H. S.; BARROS, L.; BARREIRA, J. C. M.; CALHELHA, R. C.; HELENO, S. A.; SAYER, C.; MIRANDA, C. G.; LEIMANN, F. V.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. F. R. Bioactive evaluation and application of different formulations of the natural colorant curcumin (E100) in a hydrophilic matrix (yogurt). **Food Chemistry**, , v. 261, p. 224–232, 2018.
- ASABUWA NGWABEBHOH, F.; ILKAR ERDAGI, S.; YILDIZ, U. Pickering emulsions stabilized nanocellulosic-based nanoparticles for coumarin and curcumin nanoencapsulations: In vitro release, anticancer and antimicrobial activities. **Carbohydrate Polymers**, , v. 201, n. June, p. 317–328, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.079>.
- ATHIRA, G. K.; JYOTHI, A. N. Preparation and characterization of curcumin loaded cassava starch nanoparticles with improved cellular absorption. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 10, p. 171–176, 2014.
- BAHRAMI, A.; DELSHADI, R.; ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M.; WILLIAMS, L. Antimicrobial-loaded nanocarriers for food packaging applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 278, p. 102140, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102140>.
- BAHRAMI, A.; DELSHADI, R.; JAFARI, S. M.; WILLIAMS, L. Nanoencapsulated

nisin: An engineered natural antimicrobial system for the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 94, p. 20–31, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.10.002>.

BAPTISTA, R. C.; HORITA, C. N.; SANT'ANA, A. S. Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: A review. **Food Research International**, v. 127, n. October 2019, p. 108762, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108762>.

BARLAAM, A.; PARISI, A.; SPINELLI, E.; CARUSO, M.; DI TARANTO, P.; NORMANNO, G. Global emergence of colistin-resistant escherichia coli in food chains and associated food safety implications: A review. **Journal of Food Protection**, v. 82, n. 8, p. 1440–1448, 2019.

BARROS, D. de M. et al. Brazilian Journal of Development Brazilian Journal of Development. **Brazilian**, p. 40476–40491, 2020.

BEKHIT, M.; ABU EL-NAGA, M. N.; SOKARY, R.; FAHIM, R. A.; EL-SAWY, N. M. Radiation-induced synthesis of tween 80 stabilized silver nanoparticles for antibacterial applications. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, [s. l.], v. 55, n. 10, p. 1210–1217, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10934529.2020.1784656>.

BERNELA, M.; KAUR, P.; CHOPRA, M.; THAKUR, R. Synthesis, characterization of nisin loaded alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles and evaluation against microbes. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 59, n. 2P1, p. 1093–1099, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.061>.

BHAWANA; BASNIWAL, R. K.; BUTTAR, H. S.; JAIN, V. K.; JAIN, N. Curcumin nanoparticles: Preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 59, n. 5, p. 2056–2061, 2011.

BOUWMEESTER, H.; DEKKERS, S.; NOORDAM, M. Y.; HAGENS, W. I.; BULDER, A. S.; DE HEER, C.; TEN VOORDE, S. E. C. G.; WIJNHOFEN, S. W. P.; MARVIN, H. J. P.; SIPS, A. J. A. M. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 52–62, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.10.008>.

CARNEIRO, D. O.; COSTA, M. Características e patogenicidade da salmonella enterica: uma revisão de literatura. **Visão Acadêmica**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 72–79, 2020.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Natural food additives: Quo vadis?. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 284–295, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.007>.

CARVALHO, R. I. Influência dos componentes da matriz alimentar e do pH do meio sobre o efeito inibitório do carvacrol frente Salmonella Typhimurium PT4 e Escherichia coli 0157H:7. **Centro de Ciências da Saúde (CCS) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição**, [s. l.], v. 87, n. 1,2, p. 149–200, 2017.

CHEN, L.; SONG, Z.; TAN, S. Y.; ZHANG, H.; YUK, H.-G. Application of Bacteriocins Produced from Lactic Acid Bacteria for Microbiological Food Safety. **Current Topic in Lactic Acid Bacteria and Probiotics**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 1–8, 2020.

CHOPDE, S.; DATIR, R.; DESHMUKH, G.; DHOTRE, A.; PATIL, M. Nanoparticle formation by nanospray drying & its application in nanoencapsulation of food bioactive ingredients. **Journal of Agriculture and Food Research**, [s. l.], v. 2, n. November, p. 100085, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100085>.

CUI, H.; WU, J.; LI, C.; LIN, L. Improving anti-listeria activity of cheese packaging via nanofiber containing nisin-loaded nanoparticles. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 81, p. 233–242, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.003>.

CUI, Y.; LUO, L.; WANG, X.; LU, Y.; YI, Y.; SHAN, Y.; LIU, B.; ZHOU, Y.; XIN, L. Mining, heterologous expression, purification, antibactericidal mechanism, and application of bacteriocins: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 863–899, 2021.

DA SILVA, A. C.; RODRIGUES, M. X.; SILVA, N. C. C. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in food and the prevalence in Brazil: a review. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 347–356, 2020.

DASGUPTA, N.; RANJAN, S.; MUNDEKKAD, D.; RAMALINGAM, C.; SHANKER, R.; KUMAR, A. **Nanotechnology in agro-food: From field to plate**. [S. l.]: Elsevier Ltd,

2015-. ISSN 09639969.v. 69 Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.005>.

DE ASSIS, D. C. S.; DA SILVA, T. M. L.; BRITO, R. F.; DA SILVA, L. C. G.; LIMA, W. G.; BRITO, J. C. M. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine meat and meat products over the last 15 years in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **Meat Science**, [s. l.], v. 173, p. 108394, 2021. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108394>.

DOERN, C. D. When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing. **Journal of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 52, n. 12, p. 4124–4128, 2014.

DU, Y.; YIN, L.-J.; HAN, Q.-H.; ZHAO, D.; LIU, H.-J. Effect of NaCas/Tween 80 ratios and environmental stresses on the physical stability of perilla oil-in-water emulsions. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. e13568, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.13568>.

FETSCH, A.; JOHLER, S. *Staphylococcus aureus* as a Foodborne Pathogen.

Current Clinical Microbiology Reports, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 88–96, 2018.

FURLANETTO, A. **Síntese de nanoemulsão e nanopartícula de ouro (AuNPs) contendo nisina e seus efeitos sobre os fatores de virulência de *Staphylococcus aureus***. 2020. 102 f. - Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, [s. l.], 2020. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/192336>.

GABRIELA MAIA DANIELSKI. **Carnobacterium Maltaromaticum como cultura bioprotetora contra patógenos alimentares de interesse em produtos cárneos perecíveis**. 2018. - PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ, [s. l.], 2018.

GALVÁN MÁRQUEZ, I. J.; MCKAY, B.; WONG, A.; CHEETHAM, J. J.; BEAN, C.; GOLSHANI, A.; SMITH, M. L. Mode of action of nisin on *Escherichia coli*. **Canadian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 66, n. 2, p. 161–168, 2020. Disponível em: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/cjm-2019-0315>.

GAO, M.; LONG, X.; DU, J.; TENG, M.; ZHANG, W.; WANG, Y.; WANG, X.; WANG, Z.; ZHANG, P.; LI, J. Enhanced curcumin solubility and antibacterial activity by encapsulation in PLGA oily core nanocapsules. **Food and Function**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 448–455, 2020.

GEDARAWATTE, S. T. G.; RAVENSDALE, J. T.; AL-SALAMI, H.; DYKES, G. A.; COOREY, R. Antimicrobial efficacy of nisin-loaded bacterial cellulose nanocrystals against selected meat spoilage lactic acid bacteria. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 251, n. June 2020, p. 117096, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117096>.

GOMES, T. A. T.; ELIAS, W. P.; SCALETSKY, I. C. A.; GUTH, B. E. C.; RODRIGUES, J. F.; PIAZZA, R. M. F.; FERREIRA, L. C. S.; MARTINEZ, M. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 47, p. 3–30, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjbm.2016.10.015>.

GÓMEZ-ESTACA, J.; BALAGUER, M. P.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Improving antioxidant and antimicrobial properties of curcumin by means of encapsulation in gelatin through electrohydrodynamic atomization. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 70, p. 313–320, 2017.

GOPAL, J.; MUTHU, M.; CHUN, S. Bactericidal Property of Macro-, Micro- and Nanocurcumin: An Assessment. **Arabian Journal for Science and Engineering**, [s. l.], v. 41, n. 6, p. 2087–2093, 2016.

GOUDARZI, F.; ASADI, A.; AFSHARPOUR, M.; JAMADI, R. H. In Vitro Characterization and Evaluation of the Cytotoxicity Effects of Nisin and Nisin-Loaded PLA-PEG-PLA Nanoparticles on Gastrointestinal (AGS and KYSE-30), Hepatic (HepG2) and Blood (K562) Cancer Cell Lines. **AAPS PharmSciTech**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. 1554–1566, 2018.

HASAN, M.; BEN MESSAOUD, G.; MICHAUX, F.; TAMAYOL, A.; KAHN, C. J. F.; BELHAJ, N.; LINDER, M.; ARAB-TEHRANY, E. Chitosan-coated liposomes encapsulating curcumin: Study of lipid-polysaccharide interactions and nanovesicle behavior. **RSC Advances**, [s. l.], v. 6, n. 51, p. 45290–45304, 2016.

HE, H.; YANG, R.; TANG, X. In vitro and in vivo evaluation of fenofibrate solid dispersion prepared by hot-melt extrusion. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, [s. l.], v. 36, n. 6, p. 681–687, 2010.

HOFFMANN, S.; SCALLAN WALTER, E. Acute Complications and Sequelae from Foodborne Infections: Informing Priorities for Cost of Foodborne Illness Estimates. **Foodborne Pathogens and Disease**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 172–177, 2020.

HORN, N.; BHUNIA, A. K. Food-associated stress primes foodborne pathogens for the gastrointestinal phase of infection. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 9, n. AUG, p. 1–16, 2018.

HOSSEINI, H.; JAFARI, S. M. Introducing nano/microencapsulated bioactive ingredients for extending the shelf-life of food products. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s. l.], v. 282, p. 102210, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102210>.

HUANG, M.; LIANG, C.; TAN, C.; HUANG, S.; YING, R.; WANG, Y.; WANG, Z.; ZHANG, Y. Liposome co-encapsulation as a strategy for the delivery of curcumin and resveratrol. **Food and Function**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 6447–6458, 2019.

ITO, T.; SUN, L.; BEVAN, M. A.; CROOKS, R. M. Comparison of nanoparticle size and electrophoretic mobility measurements using a carbon-nanotube-based coulter counter, dynamic light scattering, transmission electron microscopy, and phase analysis light scattering. **Langmuir**, [s. l.], v. 20, n. 16, p. 6940–6945, 2004.

JAVED, R.; ZIA, M.; NAZ, S.; AISIDA, S. O.; AIN, N. ul; AO, Q. Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects. **Journal of Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 1–15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12951-020-00704-4>.

KAMARUDDIN; EDIKRESNHA, D.; SRIYANTI, I.; MUNIR, M. M.; KHAIRURRIJAL. Synthesis of Polyvinylpyrrolidone (PVP)-Green Tea Extract Composite Nanostructures using Electrohydrodynamic Spraying Technique. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, [s. l.], v. 202, n. 1, p. 0–7, 2017.

KARAVAS, E.; KTISTIS, G.; XENAKIS, A.; GEORGARAKIS, E. Effect of hydrogen bonding interactions on the release mechanism of felodipine from nanodispersions with polyvinylpyrrolidone. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [s. l.], v. 63, n. 2, p. 103–114, 2006.

KARIMI, N.; GHANBARZADEH, B.; HAMISHEHKAR, H.; MEHRAMUZ, B.; KAFIL, H. S. Antioxidant, Antimicrobial and Physicochemical Properties of Turmeric Extract-Loaded Nanostructured Lipid Carrier (NLC). **Colloids and Interface Science Communications**, [s. l.], v. 22, n. November 2017, p. 18–24, 2018.

KASZUBA, M.; MCKNIGHT, D.; CONNAH, M. T.; MCNEIL-WATSON, F. K.; NOBBMANN, U. Measuring sub nanometre sizes using dynamic light scattering. **Journal of Nanoparticle Research**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 823–829, 2008.

KERWIN, B. A. Polysorbates 20 and 80 Used in the Formulation of Protein Biotherapeutics: Structure and Degradation Pathways. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 97, n. 8, p. 2924–2935, 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022354916326570>.

KHAN, I.; TANGO, C. N.; MISKEEN, S.; OH, D. H. Evaluation of nisin-loaded chitosan-monomethyl fumaric acid nanoparticles as a direct food additive. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 184, p. 100–107, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.034>.

KHAN, I.; OH, D. H. Integration of nisin into nanoparticles for application in foods. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 34, p. 376–384, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.013>.

KHAN, W. H.; RATHOD, V. K. Process intensification approach for preparation of curcumin nanoparticles via solvent-nonsolvent nanoprecipitation using spinning disc reactor. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, [s. l.], v. 80, p. 1–10, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2014.03.011>.

KHELISSA, S.; CHIHIB, N. E.; GHARSALLAOUI, A. Conditions of nisin production by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and its main uses as a food preservative. **Archives of Microbiology**, [s. l.], v. 203, n. 2, p. 465–480, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02054-z>.

KUANG, L.; BURGESS, B.; CUI, C. L.; TEPPER, B. J.; HALLMAN, W. K. Sensory acceptability and willingness to buy foods presented as having benefits achieved through the use of nanotechnology. **Food Quality and Preference**, [s. l.], v. 83, p. 103922, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103922>.

KUMAR, P.; MAHAJAN, P.; KAUR, R.; GAUTAM, S. Nanotechnology and its challenges in the food sector: a review. **Materials Today Chemistry**, [s. l.], v. 17, p. 100332, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2020.100332>.

KUMARI, A.; GULIANI, A.; SHUKLA, A. K.; KUMAR, S.; ACHARYA, A. Green surfactant based synthesis of curcumin loaded poly lactic-co-glycolic acid

nanoparticles with enhanced solubility, photo-stability and anti-biofilm activity.

Journal of Drug Delivery Science and Technology, [s. l.], v. 59, n. July, p. 101884, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101884>.

KUMARI, S.; YADAV, B. S.; YADAV, R. B. Synthesis and modification approaches for starch nanoparticles for their emerging food industrial applications: A review.

Food Research International, [s. l.], v. 128, p. 108765, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108765>.

KURAKULA, M.; RAO, G. S. N. K. Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): As excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 60, n. September, p. 102046, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102046>.

LEMES, G. F.; MARCHIORE, N. G.; MOREIRA, T. F. M.; DA SILVA, T. B. V.; SAYER, C.; SHIRAI, M. A.; GONÇALVES, O. H.; GOZZO, A. M.; LEIMANN, F. V. Enzymatically crosslinked gelatin coating added of bioactive nanoparticles and antifungal agent: Effect on the quality of Benitaka grapes. **Lwt**, [s. l.], v. 84, p. 175–182, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.050>.

LEYVA-DIAZ, A.; HERNANDEZ-PATLAN, D.; SOLIS-CRUZ, B.; ADHIKARI, B.; KWON, Y. M.; LATORRE, J.; HERNANDEZ-VELASCO, X.; FUENTE-MARTINEZ, B.; HARGIS, B.; LOPEZ-ARELLANO, R.; TELLEZ, G. Evaluation of Curcumin and Copper Acetate Against Salmonella Typhimurium Infection, Intestinal Permeability, and Cecal Microbiota Composition in Broiler Chickens. [s. l.], p. 1–23, 2020.

LI, B.; KONECKE, S.; WEGIEL, L. A.; TAYLOR, L. S.; EDGAR, K. J. Both solubility and chemical stability of curcumin are enhanced by solid dispersion in cellulose derivative matrices. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 98, n. 1, p. 1108–1116, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.017>.

LI, J.; LEE, I. W.; SHIN, G. H.; CHEN, X.; PARK, H. J. **Curcumin-Eudragit® e PO solid dispersion: A simple and potent method to solve the problems of curcumin**. [S. l.]: Elsevier B.V., 2015-. ISSN 18733441.v. 94 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.06.002>.

LIAO, Y.; YAO, Y.; YU, Y.; ZENG, Y. Enhanced Antibacterial Activity of Curcumin by Combination With Metal Ions. **Colloids and Interface Science Communications**,

[s. l.], v. 25, n. March, p. 1–6, 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.colcom.2018.04.009>.

LIU, C. H.; HUANG, H. Y. Antimicrobial activity of curcumin-loaded myristic acid microemulsions against *Staphylococcus epidermidis*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, [s. l.], v. 60, n. 9, p. 1118–1124, 2012.

LUO, L.; WU, Y.; LIU, C.; HUANG, L.; ZOU, Y.; SHEN, Y.; LIN, Q. Designing soluble soybean polysaccharides-based nanoparticles to improve sustained antimicrobial activity of nisin. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 225, n. June, p. 115251, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115251>.

MA, S.; MOSER, D.; HAN, F.; LEONHARD, M.; SCHNEIDER-STICKLER, B.; TAN, Y. Preparation and antibiofilm studies of curcumin loaded chitosan nanoparticles against polymicrobial biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], 2020.

MAKA, Ł.; POPOWSKA, M. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from food. **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 343–358, 2016.

MARSHALL, K. E. *et al.* Lessons Learned from a Decade of Investigations of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Outbreaks Linked to Leafy Greens, United States and Canada. **Emerging infectious diseases**, [s. l.], v. 26, n. 10, p. 2319–2328, 2020.

MARTINEZ, R. C. R.; ALVARENGA, V. O.; THOMAZINI, M.; FÁVARO-TRINDADE, C. S.; SANT'ANA, A. de S. Assessment of the inhibitory effect of free and encapsulated commercial nisin (Nisaplin®), tested alone and in combination, on *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* in refrigerated milk. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 68, p. 67–75, 2016.

MATLOUBI, Z.; HASSAN, Z. HSA-curcumin nanoparticles: a promising substitution for Curcumin as a Cancer chemoprevention and therapy. **DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 209–219, 2020.

MENG, F.; TRIVINO, A.; PRASAD, D.; CHAUHAN, H. Investigation and correlation of drug polymer miscibility and molecular interactions by various approaches for the preparation of amorphous solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 71, p. 12–24, 2015. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2015.02.003>.

MIRZAHOSSEINIPOUR, M.; KHORSANDI, K.; HOSSEINZADEH, R.; GHAZAEIAN, M.; SHAHIDI, F. K. Antimicrobial photodynamic and wound healing activity of curcumin encapsulated in silica nanoparticles. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, [s. l.], v. 29, n. September 2019, p. 101639, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.101639>.

MOGHADAMTOUSI, S. Z. et al. A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. **BioMed Research International**, [s. l.], v. 2014, 2014.

MOHAMMADIAN, M.; WALY, M. I.; MOGHADAM, M.; EMAM-DJOMEH, Z.; SALAMI, M.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A. Nanostructured food proteins as efficient systems for the encapsulation of bioactive compounds. **Food Science and Human Wellness**, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 199–213, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.04.009>.

NAIR, D. V. T.; VENKITANARAYANAN, K.; JOHNY, A. K. Antibiotic-resistant Salmonella in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control. **Foods**, [s. l.], v. 7, n. 10, 2018.

NIAZ, T.; SHABBIR, S.; NOOR, T.; ABBASI, R.; RAZA, Z. A.; IMRAN, M. Polyelectrolyte multicomponent colloidosomes loaded with nisin Z for enhanced antimicrobial activity against foodborne resistant pathogens. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 8, n. JAN, p. 1–19, 2018.

PAKBIN, B.; BRÜCK, W. M.; ROSSEN, J. W. A. Virulence factors of enteric pathogenic Escherichia coli: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 18, 2021.

PÉREZ, V. K. C.; COSTA, G. M. da; GUIMARÃES, A. S.; HEINEMANN, M. B.; LAGE, A. P.; DORNELES, E. M. S. Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in Staphylococcus aureus from bovine mastitis. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [s. l.], v. 22, p. 792–802, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.06.010>.

PRADEEPA; UDAYA BHAT, K.; VIDYA, S. M. Nisin gold nanoparticles assemble as potent antimicrobial agent against Enterococcus faecalis and Staphylococcus aureus clinical isolates. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, [s. l.], v. 37, p.

20–27, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2016.11.002>.

RAFIEE, Z.; NEJATIAN, M.; DAEIHAMED, M.; JAFARI, S. M. Application of curcumin-loaded nanocarriers for food, drug and cosmetic purposes. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 88, n. December 2018, p. 445–458, 2019.

RAI, D.; SINGH, J. K.; ROY, N.; PANDA, D. Curcumin inhibits FtsZ assembly: An attractive mechanism for its antibacterial activity. **Biochemical Journal**, [s. l.], v. 410, n. 1, p. 147–155, 2008.

RAMOS, A. P. Dynamic Light Hamburan Terapan untuk Nano Partikel Karakterisasi. *In*: NANOCHARACTERIZATION TECHNIQUES. [S. l.]: Elsevier Inc., 2017. p. 99–110. *E-book*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-49778-7/00004-7>.

ROSA, F. C. da; NOGUEIRA, A. L.; DERETTI, O. Caracterização De Micropartículas De Plla Contendo Curcumina Pela Técnica De Emulsificação/Evaporação De Solvente / Characterization of Plla Microparticles Containing Curcumin By Solvent Emulsification/Evaporation Technique. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 28837–28847, 2021.

RUBAB, M.; SHAHBAZ, H. M.; OLAIMAT, A. N.; OH, D. H. Biosensors for rapid and sensitive detection of Staphylococcus aureus in food. **Biosensors and Bioelectronics**, [s. l.], v. 105, p. 49–57, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.023>.

SANTOS, J. C. P.; SOUSA, R. C. S.; OTONI, C. G.; MORAES, A. R. F.; SOUZA, V. G. L.; MEDEIROS, E. A. A.; ESPITIA, P. J. P.; PIRES, A. C. S.; COIMBRA, J. S. R.; SOARES, N. F. F. Nisin and other antimicrobial peptides: Production, mechanisms of action, and application in active food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 48, p. 179–194, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.06.008>.

SANTOS, K. P. O. dos; FARIA, A. C. dos S. R.; SILVA, D. P. A.; LISBOA, P. F.; COSTA, A. de P.; KNACKFUSS, F. B. Salmonella spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **Pubvet**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 1–9, 2020.

SATHIYABAMA, M.; INDHUMATHI, M.; AMUTHA, T. Preparation and characterization of curcumin functionalized copper nanoparticles and their application

enhances disease resistance in chickpea against wilt pathogen. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 29, p. 101823, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101823>.

SERGELIDIS, D.; ANGELIDIS, A. S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. **Letters in Applied Microbiology**, [s. l.], v. 64, n. 6, p. 409–418, 2017.

SHI, C.; ZHANG, X.; ZHAO, X.; MENG, R.; LIU, Z.; CHEN, X.; GUO, N. Synergistic interactions of nisin in combination with cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. **Food Control**, [s. l.], v. 71, p. 10–16, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.020>.

SILVA, A. C. da; SANTOS, P. D. de F.; SILVA, J. T. do P.; LEIMANN, F. V.; BRACHT, L.; GONÇALVES, O. H. Impact of curcumin nanoformulation on its antimicrobial activity. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 72, n. January 2017, p. 74–82, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.004>.

SILVA, C. de S.; FIGUEIREDO, H. M. de; STAMFORD, T. L. M.; SILVA, L. H. M. da. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 293, n. January, p. 79–86, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.01.004>.

SILVA, A. J. H. **Salmonella spp. um agente patogênico veiculado em alimentos**. [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: <http://publicacoesacademicas.unicatolicaquixada.edu.br/index.php/eedic/article/view/3146/2694>.

SIREGAR, C.; MARTONO, S.; ROHMAN, A. Application of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy coupled with multivariate calibration for quantitative analysis of curcuminoid in tablet dosage form. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, [s. l.], v. 8, n. 8, p. 151–156, 2018.

SOLTANI, S.; HAMMAMI, R.; COTTER, P. D.; REBUFFAT, S.; SAID, L. Ben; GAUDREAU, H.; BÉDARD, F.; BIRON, E.; DRIDER, D.; FLISS, I. Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: Toxicity aspects and regulations. **FEMS Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 45, n. 1, p. 1–24, 2021.

SONG, Z.; WU, Y.; WANG, H.; HAN, H. Synergistic antibacterial effects of curcumin modified silver nanoparticles through ROS-mediated pathways. **Materials Science and Engineering C**, [s. l.], 2019.

SOUZA, J. F.; SOUZA, A. C. F.; COSTA, F. N. Estudo retrospectivo de surtos de doenças veiculadas por alimentos, na região nordeste e Estado do Maranhão, no período de 2007 a 2019. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. e36010111728, 2021.

SU, J.; CAI, Y.; TAI, K.; GUO, Q.; ZHU, S.; MAO, L.; GAO, Y.; YUAN, F.; VAN DER MEEREN, P. High-internal-phase emulsions (HIPEs) for co-encapsulation of probiotics and curcumin: Enhanced survivability and controlled release. **Food and Function**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 70–82, 2021.

TAGHAVIFAR, S.; AFROUGHI, F.; SAADATI KEYVAN, M. Curcumin Nanoparticles Improved Diabetic Wounds Infected With Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Sensitized With HAMLET. **International Journal of Lower Extremity Wounds**, [s. l.], 2020.

TAKUNDWA, B. A.; BHAGWAT, P.; PILLAI, S.; IJABADENIYI, O. A. Antimicrobial efficacy of nisin, oregano and ultrasound against Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes on lettuce. **Lwt**, [s. l.], v. 139, p. 110522, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110522>.

TAYEL, A. A.; EL-SEDFY, M. A.; IBRAHIM, A. I.; MOUSSA, S. H. Application of Quercus infectoria extract as a natural antimicrobial agent for chicken egg decontamination. **Revista Argentina de Microbiologia**, [s. l.], v. 50, n. 4, p. 391–397, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.12.003>.

TKACZEWSKA, J. Peptides and protein hydrolysates as food preservatives and bioactive components of edible films and coatings - A review. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 106, p. 298–311, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.022>.

TYAGI, P.; SINGH, M.; KUMARI, H.; KUMARI, A.; MUKHOPADHYAY, K. Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. **PLoS ONE**, [s. l.], 2015.

URBAN, D. A.; MILOSEVIC, A. M.; BOSSERT, D.; CRIPPA, F.; MOORE, T. L.;

GEERS, C.; BALOG, S.; ROTHEN-RUTISHAUSER, B.; PETRI-FINK, A. Taylor Dispersion of Inorganic Nanoparticles and Comparison to Dynamic Light Scattering and Transmission Electron Microscopy. **Colloids and Interface Science Communications**, [s. l.], v. 22, n. November 2017, p. 29–33, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2017.12.001>.

VELÁZQUEZ-CARRILES, C. A.; CARBAJAL-ARIZAGA, G. G.; SILVA-JARA, J. M.; REYES-BECERRIL, M. C.; AGUILAR-USCANGA, B. R.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, M. E. Chemical and biological protection of food grade nisin through their partial intercalation in laminar hydroxide salts. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 57, n. 9, p. 3252–3258, 2020.

VORONOVA, M.; RUBLEVA, N.; KOCHKINA, N.; AFINEEVSKII, A.; ZAKHAROV, A.; SUROV, O. Preparation and characterization of polyvinylpyrrolidone/cellulose nanocrystals composites. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 8, n. 12, 2018.

WANG, X.; BISWAS, S.; PAUDYAL, N.; PAN, H.; LI, X.; FANG, W.; YUE, M. Antibiotic resistance in salmonella typhimurium isolates recovered from the food chain through national antimicrobial resistance monitoring system between 1996 and 2016. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 10, n. MAY, p. 1–12, 2019.

WANG, Y.; LU, Z.; WU, H.; LV, F. Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 136, n. 1, p. 71–74, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.001>.

WASIŃSKI, B. Extra-intestinal pathogenic escherichia coli – threat connected with food-borne infections. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 532–537, 2019.

WEI, X.; ZHAO, X. Advances in typing and identification of foodborne pathogens. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 37, p. 52–57, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.09.002>.

XIE, M.; FAN, D.; ZHAO, Z.; LI, Z.; LI, G.; CHEN, Y.; HE, X.; CHEN, A.; LI, J.; LIN, X.; ZHI, M.; LI, Y.; LAN, P. Nano-curcumin prepared via supercritical: Improved anti-bacterial, anti-oxidant and anti-cancer efficacy. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 496, n. 2, p. 732–740, 2015.

ZHAO, X.; LIU, Z.; LI, W.; LI, X.; SHI, C.; MENG, R.; CHENG, W.; JIN, K.; YANG, Z.; SHI, X.; GUO, N.; YU, L. InVitro synergy of nisin and coenzyme Q0 against Staphylococcus aureus. **Food Control**, [s. l.], v. 46, p. 368–373, 2014.

ZHAO, X.; ZHEN, Z.; WANG, X.; GUO, N. Synergy of a combination of nisin and citric acid against Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, [s. l.], v. 34, n. 12, p. 2058–2068, 2017a.

ZHAO, X.; ZHEN, Z.; WANG, X.; GUO, N. Synergy of a combination of nisin and citric acid against Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, [s. l.], 2017b.

ZHENG, D.; HUANG, C.; HUANG, H.; ZHAO, Y.; KHAN, M. R. U.; ZHAO, H.; HUANG, L. Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review. **Chemistry and Biodiversity**, [s. l.], v. 17, n. 8, 2020.

ZIMINA, M.; BABICH, O.; PROSEKOV, A.; SUKHIKH, S.; IVANOVA, S.; SHEVCHENKO, M.; NOSKOVA, S. Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins. **Antibiotics**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 1–21, 2020.