

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PRISCILA DAYANE DE FREITAS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MICROCRISTAIS  
DE CURCUMINA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO  
2015

PRISCILA DAYANE DE FREITAS SANTOS

## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MICROCRISTAIS DE CURCUMINA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos, do Departamento de Alimentos – DALIM– da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

Co-orientadora: Prof. Dra. Lívia Bracht

CAMPO MOURÃO  
2015



**Ministério da Educação**  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
**Departamento Acadêmico de Alimentos**



---

---

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE MICROCRISTAIS DE CURCUMINA**

**POR**

**PRISCILA DAYANE DE FREITAS SANTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado em 02 de julho de 2015 às 14:00 horas como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Odinei Hess Gonçalves  
Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marianne Ayumi Shirai  
Membro da banca

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Regina Ferreira Geraldo  
Membro da banca

---

**Nota:** O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se na Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da UTFPR *Campus* Campo Mourão.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a minha família, especialmente aos meus pais Scheila de Freitas e Marcelo Rodrigues, por todos os esforços feitos ao longo da vida para que pudessem me proporcionar esta oportunidade. Agradeço a eles pelo incentivo, apoio e dedicação.

Agradeço ao meu companheiro, Henrique Montanholi, por estar ao meu lado em todos esses anos, nos momentos bons e ruins, os quais pudemos dividir juntos.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Odinei Hess Gonçalves, por me guiar no desenvolvimento deste trabalho, pelos conhecimentos e experiências passados, e pela grande ajuda prestada. Também agradeço à minha co-orientadora, Dr<sup>a</sup> Lívia Bracht, pela paciência e disposição em me ensinar, acompanhar e ajudar durante todos os trabalhos realizados.

Agradeço ao meu colega de pesquisa, Anderson Clayton, que contribuiu incansavelmente com a realização de todos os testes necessários à produção deste trabalho.

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente, com a conclusão desta graduação, desde os técnicos dos laboratórios aos meus amigos, que me proporcionam conforto e alegria.

## RESUMO

SANTOS, Priscila Dayane de Freitas. **Avaliação da atividade antimicrobiana de microcristais de curcumina**. 2015. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

Composto fenólico extraído dos rizomas da *Curcuma longa*, a curcumina é um pigmento cristalino, insolúvel em água, suscetível à fatores como pH, temperatura, oxidação e luz. Essa fragilidade dificulta seu uso em aplicações diversas, o que é um desafio, já que a curcumina possui vários efeitos farmacológicos interessantes, como atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, além de vários estudos apontarem sua atuação no bloqueio da carcinogênese. Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos que permitam o uso deste potencial. No presente trabalho a curcumina foi convertida em microcristais pelo método de precipitação em não solvente modificado. Para a preparação dos microcristais foram testadas três formulações, contendo ou não estabilizantes: 1) curcumina + PVP; 2) curcumina + caseinato de cálcio e 3) curcumina sem a adição de estabilizante. A formulação que apresentou as melhores características ao ser analisada no microscópio óptico foi a de curcumina sem a adição de estabilizante, sendo que esta formulação foi escolhida para os testes de atividade antimicrobiana. Foi feita uma comparação entre a atividade antimicrobiana apresentada pela curcumina livre e pelos microcristais de curcumina, por meio da técnica de diluição em ágar modificada, diante de quatro microrganismos: *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* e *P. aeruginosa*. A curcumina livre e os microcristais de curcumina foram capazes de inibir o crescimento de todos os microrganismos testados. Adicionalmente, as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) obtidas demonstraram a maior eficiência dos microcristais em relação à curcumina in natura, sendo que a principal explicação para isso é o tamanho reduzido das partículas dos microcristais. Análises de caracterização feitas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) confirmam que a única modificação física sofrida pela curcumina durante a preparação dos microcristais foi a redução no tamanho dos cristais. Os resultados apresentados demonstram que a produção de microcristais de curcumina é uma alternativa que viabiliza e potencializa seu uso.

Palavras - chave: Curcumina. Microcristais. Microrganismos. DSC. Atividade antimicrobiana.

## ABSTRACT

SANTOS, Priscila Dayane de Freitas. **Evaluation of the antimicrobial activity of curcumin microcrystals.** 2015. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Engenharia de Alimentos), Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

Phenolic compound extracted from the rhizome of *Curcuma longa*, curcumin is a crystalline pigment, insoluble in water, susceptible to factors such as pH, temperature, oxidation and light. This weakness hampers its use in various applications, which is a problem since curcumin has several interesting pharmacological effects such as anti-inflammatory, antimicrobial, antioxidant, and many studies indicate its performance in blocking carcinogenesis. Thus, it becomes necessary to develop methods for the use of this potential. In this study, curcumin was converted into microcrystals by the modified method of non-solvent precipitation. For the preparation of microcrystals three formulations were tested, with or without stabilizers: 1) PVP + curcumin; 2) curcumin + calcium caseinate and 3) curcumin without the addition of stabilizer. The formulation that showed better characteristics to be analyzed in the light microscope was curcumin without adding a stabilizer, and that this formulation was chosen for the antimicrobial activity tests. A comparison of the antimicrobial activity exhibited by the two compounds by means of modified dilution technique in agar was done before four microorganisms: *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *B. cereus*. Free curcumin and curcumin microcrystals were able to inhibit growth of all the microorganisms. In addition, the minimum inhibitory concentrations (MIC) obtained demonstrate the increased efficiency of microcrystals regarding curcumin in nature, and the main explanation for this is the reduced particle size of the microcrystals. Characterization analyzes by Differential Scanning Calorimetry (DSC) confirm that the only physical modifications suffered by the material was a reduction in the size of the crystals. These results demonstrate that the production of curcumin microcrystals is an alternative that facilitates and enhances its use.

Keywords: Curcumin. Microcrystals. Microorganisms. DSC. Antimicrobial activity.

## LISTADE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química dos pigmentos curcuminóides extraídos de <i>Curcuma longa</i> .....	13
Figura 2 - Microcristais de curcumina produzidos com estabilizante PVP, registrados em microscópio óptico com aumento de 400x.....	20
Figura 3 - Microcristais de curcumina produzidos com caseinato de cálcio, registrados em microscópio óptico com aumento de 400x.....	21
Figura 4 - Microcristais de curcumina produzidos sem estabilizante, registrados em microscópio óptico com aumento de 400x.....	21
Figura 5 - Curcumina em pó dispersa em água, registrada em microscópio óptico com aumento de 400x.....	22
Figura 6 - Curvas de temperatura obtidas para curcumina livre e microcristais de curcumina em DSC.....	23
Figura 7 - Porcentagens de inibição da curcumina livre e dos microcristais de curcumina frente aos microrganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	24

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração inibitória mínima da curcumina livre e dos microcristais de curcumina diante de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	25
---	----



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIM	Concentração Inibitória Mínima
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
PVP	Polivinilpirrolidona

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1. Objetivo Geral.....	11
2.2. Objetivos Específicos .....	11
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>12</b>
3.1. Curcumina .....	12
3.2. Características Físico-Químicas .....	12
3.3. Técnicas de redução do tamanho de partículas .....	14
3.4. Estudos sobre a atividade antimicrobiana da curcumina.....	15
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
4.1. Material.....	16
4.2. Preparo dos microcristais de curcumina.....	16
4.3. Microrganismos .....	17
4.4. Padronização do inóculo .....	17
4.5. Atividade antimicrobiana e porcentagem de inibição.....	17
4.6. Análise em DSC .....	18
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>20</b>
5.1. Obtenção dos microcristais .....	20
5.2. Avaliação da atividade antimicrobiana e porcentagem de inibição.....	23
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>27</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>28</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A crescente preocupação da população com a qualidade e segurança dos produtos que consome vem exigindo, nos últimos anos, a procura por novos métodos de processamento e ingredientes utilizados na formulação de alimentos. A dúvida com relação ao efeito de certas substâncias no organismo humano, como os aditivos alimentares, nutre o interesse por compostos naturais que possam agir como alternativas à essas substâncias. Além de manter a vida de prateleira dos alimentos adequada, estes compostos naturais ainda trariam benefícios secundários à saúde do consumidor, o que incentiva a realização de pesquisas voltadas à este assunto (WANG, 2012).

Uma característica importante para garantir a qualidade e segurança do alimento é a ausência de microrganismos, que geralmente é controlada pela adição de agentes antimicrobianos químicos, como nitratos, nitritos, sulfitos, dentre outros. Um agente antimicrobiano é uma substância que consegue causar a morte ou a inibição do crescimento de um microrganismo, evitando que ele degrade o material ou alimento no qual está contido ou transmita doenças através deste. Alguns compostos obtidos de raízes, sementes, flores e especiarias, como o própolis, alguns pigmentos e óleos, também possuem essa capacidade de destruição/inibição microbiológica (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010).

Dentre estes compostos destaca-se a curcumina, um pigmento amarelo insolúvel em água que pode ser obtido de condimentos como o açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) e o curry. Estudos recentes apontam a curcumina como sendo um composto natural com ação anticancerígena, antiinflamatória e antidiabetes, evidenciando suas propriedades benéficas ao organismo (GUTIERRES, 2011; PARVATHY, 2009; MOHANTY, 2010). Entretanto, é seu caráter antimicrobiano que desperta o interesse do setor de alimentos. Algumas características, porém, limitam seu uso em escala industrial, já que o pigmento puro é insolúvel em água, como já citado, e suscetível a degradação pela luz, calor e oxidantes. Assim, uma solução para seu uso é a conversão da curcumina em pó a microcristais, que podem ser dispersos com relativa facilidade em água e ainda aumentam sua capacidade antimicrobiana, devido à maior superfície de contato proporcionada pelo tamanho

reduzido dos cristais. Pesquisas realizadas com micropartículas de curcumina encapsulada mostraram a relação direta existente entre o menor tamanho da partícula e o maior poder inibidor da substância, o que permite supor que os microcristais de curcumina se comportem de maneira semelhante (WANG, 2012).

Dessa forma, identifica-se a necessidade de adaptar as características de uma substância com tamanho potencial à realidade da indústria e do consumidor.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana de microcristais de curcumina frente aos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*, pelo método de diluição em ágar.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Produzir microcristais de curcumina por meio de precipitação em não solvente;
- Comparar a atividade antimicrobiana da curcumina na forma de pó e na forma de microcristais;
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) da curcumina, diante das bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

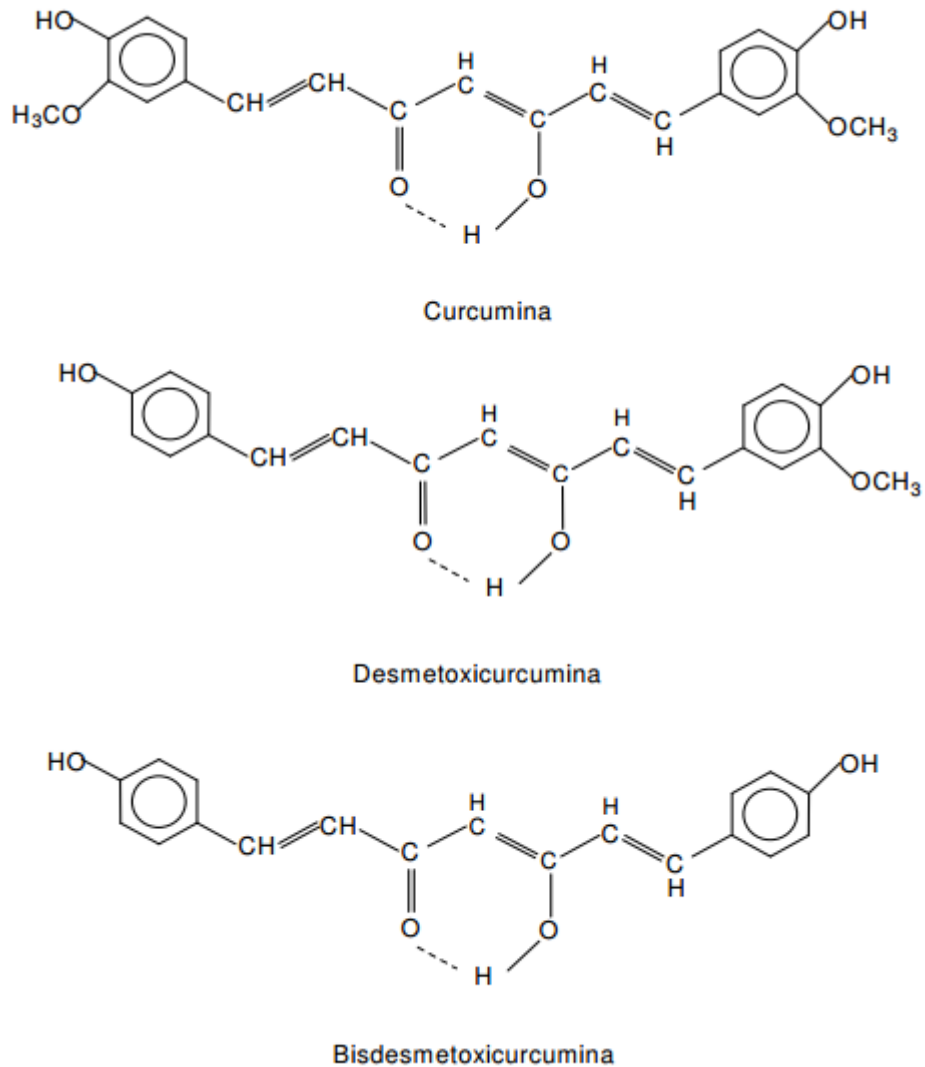
#### 3.1. Curcumina

A curcumina é um polifenol hidrofóbico cristalino extraído dos rizomas da cúrcuma (*Curcuma longa*). Tem sido usada ao longo dos séculos na medicina tradicional e também como um tempero e corante alimentício em países asiáticos, como Índia e China. A cúrcuma, também conhecida como açafrão-da-terra, gengibre dourado, mangarataia, dentre outros, pertence à família Zingiberaceae e possui em sua composição amido (60-70%), proteínas (6-8%), lipídeos (5-10%), fibras (2-7%), óleos essenciais (3-7%) e os pigmentos curcuminóides (2-6%). Estes pigmentos dividem-se em três tipos - curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina. O primeiro deles é o mais abundante, perfazendo 60% do total de curcuminóides, enquanto os outros representam 22% e 18%, respectivamente (HU, 2015; ALMEIDA, 2006).

#### 3.2. Características Físico-Químicas da Curcumina

Quimicamente denominada 1,7-bis-(hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, ou mais comumente diferoluilmetano, suas moléculas apresentam tautomerismo ceto-enol, com predominância da forma ceto em meios ácidos e neutros, e da forma enol em meios alcalinos. A curcumina comercial é constituída pelos pigmentos curcuminóides na proporção aproximada de 77% diferoluilmetano, 17% desmetoxicurcumina e 6% bisdesmetoxicurcumina. Algumas de suas estruturas, como as hidroxilas dos anéis aromáticos, as duplas ligações da parte alceno e a porção dicetona são considerados os principais responsáveis por seus efeitos benéficos. Dentre eles, é possível citar suas atividades anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana, antifúngica, antiviral e anticancerígena. A Figura 1

mostra as estruturas químicas dos pigmentos curcuminóides (LIU, 2015; ALMEIDA; 2006; ANAND, 2007).



**Figura 1.** Estrutura química dos pigmentos curcuminóides extraídos de *Curcuma longa*.

Entretanto, algumas características apresentadas pela curcumina limitam seu uso e sua biodisponibilidade no organismo, como a insolubilidade em água, a susceptibilidade à fotodegradação e à oxidação, e a instabilidade térmica. Segundo FILHO (2000), um estudo demonstrou a instabilidade da curcumina em pH superior a 7. A faixa de pH que ofereceu maior estabilidade à substância foi de 4 a 7, sendo que acima disso sua degradação foi acelerada. Ainda segundo o autor, até a temperatura de 100°C o pigmento não sofreu danos, porém acima de 125°C houve

perda considerável em relação ao seu estado original. Entretanto, o fator com maior impacto sobre a degradação da curcumina foi a presença de luz, responsável por uma perda de aproximadamente 30% após um período de 30 dias de exposição (NGUYEN, 2014).

### 3.3. Técnicas de redução do tamanho de partículas

Com o intuito de facilitar e melhorar a aplicação de substâncias pouco solúveis em água e de fácil degradação, como é o caso da curcumina, que representam interesse principalmente em usos farmacêuticos, várias técnicas de redução do tamanho de partículas vêm sendo testadas nos últimos anos. Algumas técnicas visam à encapsulação dos princípios ativos em escalas micro e nano para proteger os compostos e ao mesmo tempo conseguir uma liberação controlada destes nos organismos aplicados. Outras visam apenas à redução no tamanho das partículas das substâncias, o que aumentaria seus efeitos de interesse pela maior área superficial obtida. HECQ et al (2005) estudou o aumento na solubilidade e taxa de dissolução de nifedipina após a produção de nanocristais por homogeneização a alta pressão, obtendo resultados satisfatórios. SHAIKH et al (2009) produziu nanopartículas de curcumina pela técnica de emulsão e demonstrou um aumento na biodisponibilidade da substância ingerida via oral quando comparada a curcumina administrada em conjunto com o intensificador de absorção piperina. SHARMA (2009) investigou o efeito da técnica de moagem úmida (wet milling) no estado sólido das substâncias indometacina e sinvastatina, sendo que as análises indicaram leve amorfização na superfície da primeira.

Outro método que vem sendo utilizado para redução de partículas, inclusive na indústria, é a técnica de precipitação em não solvente. Nela são utilizados dois solventes miscíveis entre si. Entretanto, o material sólido que será convertido é solúvel em apenas um deles. Assim, quando se adiciona a mistura soluto/solvente ao não solvente, sob agitação, o sólido precipita, resultando em partículas do tamanho desejado. Uma vantagem deste método é que não há necessidade de aquecimento, o que o torna uma boa alternativa para sólidos sensíveis ao calor.



Além disso, esse procedimento se destaca pela facilidade em sua realização, além do menor tempo de duração em relação a outras técnicas (ALBANUS, 2011).

### 3.4. Estudos sobre a atividade antimicrobiana da curcumina

A literatura relata que a curcumina em sua forma livre apresenta atividade antimicrobiana para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans* (DUBEY et al., 2008; HAN; YANG, 2005; HU; HUANG; CHEN, 2013; MUN et al., 2013; PARVATHY; NEGI; SRINIVAS, 2009). A curcumina em sua forma microencapsulada para *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Aspergillus níger*, *Penicillium notatum*, *Saccharomyces cerevisiae* (WANG et al., 2009). Nanoparticulada ou nanoencapsulada para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus níger*, *Penicillium notatum* (BHAWANA et al., 2011; HATAMIE et al., 2012). Quando aplicada em filmes inibe *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoni* (GOVINDARAJ; KANDASUBRAMANIAN; KODAM, 2014) ou em sua forma de glicosídeo é antimicrobiano para seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* (PARVATHY; NEGI; SRINIVAS, 2009). Enquanto que os conjugados bioativos da curcumina inibem *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus*, *Klebsiella aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Penicillium notatum*, *Aspergillus fumigatus* (DUBEY et al., 2008), e combinadas com sulfanamidas impede o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Aspergillus níger*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma viride*, *Curvularia luneta* (LAL et al., 2013).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Material

Curcumina (Sigma-Aldrich, 99,5% pureza), álcool etílico (P. A.), água destilada, caseinato de cálcio (Sigma-Aldrich, 99% pureza), PVP (Sigma-Aldrich, 99% pureza) foram utilizados para obtenção dos microcristais de curcumina.

Solução salina 0,85%, caldo Muller Hinton (CMH) e ágar Muller Hinton (AMH) da Himedia, vórtex, espectro de ultravioleta visível foram utilizados para determinação da atividade antimicrobiana.

### 4.2. Preparo dos microcristais de curcumina

Para obtenção dos microcristais foi utilizado o método de precipitação em não solvente (YEN, 2010), com algumas alterações. Para tanto, inicialmente preparou-se uma solução alcoólica de curcumina na concentração de 3,33 mg/mL. Esta solução foi vertida em um meio aquoso, contendo ou não estabilizante, que se encontrava sob agitação no homogeneizador ULTRA TURRAX (IKA T25 digital) a 22000 rpm. A solução final (com volume de 90 mL) foi mantida no homogeneizador sob agitação durante 15 minutos. Ao fim deste tempo, a solução foi levada ao banho metabólico Dubnoff (Solab) a 50°C, com agitação mínima (20 RPM), durante 48 horas, para evaporação do etanol. Em seguida, transferiu-se uma gota da solução obtida para uma lâmina de vidro, para visualização dos microcristais em microscópio óptico. Foi utilizado o programa ScopePhoto para tirar fotos da amostra nos aumentos de 100, 400 e 1000 vezes. O conteúdo restante foi congelado em ultrafreezer vertical (LIOTOP) a -90°C e liofilizado (Liofilizador L101 – LIOTOP) por aproximadamente 72 horas. Este procedimento foi realizado utilizando-se dois diferentes estabilizantes adicionados ao meio aquoso, PVP (300 mg) e caseinato de cálcio (75 mg), bem como na ausência de estabilizante.

### 4.3. Microrganismos

Os testes foram feitos para 4 diferentes bactérias: *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). As cepas bacterianas encontravam-se em ágar inclinado não seletivo BHI. Com o auxílio de uma alça bacteriológica foi retirada uma pequena quantidade da biomassa bacteriana da superfície dos tubos com ágar BHI e repicado para um tubo contendo caldo Mueller Hinton (MH). Estes tubos foram incubados durante 24 horas a 35°C, sendo a turvação do caldo indicativo do crescimento bacteriano.

### 4.4. Padronização do inóculo

Os inóculos bacterianos com crescimento de 24 horas em caldo MH foram utilizados para os ensaios de avaliação da atividade antimicrobiana da curcumina. Para tanto, pequenas quantidades dos inóculos sem caldo MH foram transferidas com uma pipeta Pasteur para tubos contendo solução salina 0,85% estéril. A turbidez destes tubos foi comparada com a turbidez da solução 0,5 da escala McFarland. Adicionalmente, a densidade correta do controle de turbidez foi também verificada no espectrofotômetro. A absorbância em 625 nm foi de aproximadamente 0,08 a 0,10, o que corresponde a uma suspensão bacteriana com aproximadamente  $10^8$  UFC/ml. A partir desta solução foram feitas diluições até se obter suspensões bacterianas com concentração de  $10^4$  UFC/ml (NCCLS, 2003).

### 4.5. Atividade antimicrobiana e porcentagem de inibição

Para avaliação da atividade antimicrobiana foi utilizada a técnica de diluição em ágar (NEGI; JAYAPRAKASHA; RAO; SAKARIAH, 1999), com modificações. Foram utilizadas 5 diferentes concentrações finais de microcristais de curcumina e da curcumina livre: 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml e 62,5 µg/ml. A curcumina livre e os microcristais de curcumina foram diluídos em Agar Mueller-Hinton (MH) e colocados em tubos de ensaio com rosca. Tubos controle também foram utilizados sem a adição de curcumina. Os tubos foram esterilizados em autoclave vertical durante 15 minutos a 121°C. Após resfriamento, os tubos foram mantidos em banho-maria a aproximadamente 46°C. Em seguida inoculou-se 100 µl do inóculo bacteriano previamente padronizado ( $10^4$  UFC/ml) em cada tubo. Após homogeneização em vórtex o conteúdo dos tubos foi vertido em placas de Petri estéreis. Estas placas foram incubadas na posição invertida durante 24 horas em estufa a 35°C. Após este período foi realizada a contagem do número de colônias em cada placa. Todas as análises foram realizadas em triplicata. O efeito inibitório (% de inibição) foi calculado utilizando-se a Equação 1. A concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada a menor concentração de curcumina capaz de causar inibição completa do crescimento microbiano.

Equação (1)

$$\% \text{ Inibição} = 1 - T/C \times 100$$

T= quantidade de colônias (UFC/mL) das placas contendo curcumina livre ou microcristais de curcumina

C = quantidade de colônias (UFC/mL) das placas controle

#### 4.6. Análise em DSC

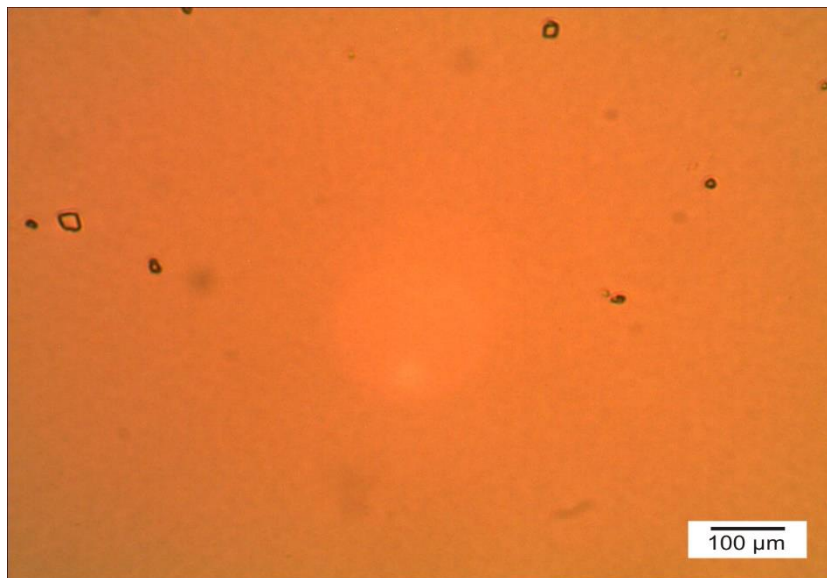
A técnica de calorimetria diferencial de varredura foi empregada para avaliar o estado físico da curcumina após o procedimento de obtenção dos cristais. Foi

utilizado o equipamento de Perkin Elmer DSC4000. Para esta análise, foram utilizados aproximadamente 3 a 5 mg de curcumina livre e dos microcristais de curcumina (liofilizado). Foi utilizado porta-amostra de alumínio para alocar as amostras durante o aquecimento. As amostras passaram por aquecimento de 20 a 200°C com taxa de aquecimento de 20°C/min e fluxo de nitrogênio de 50 mL/min.

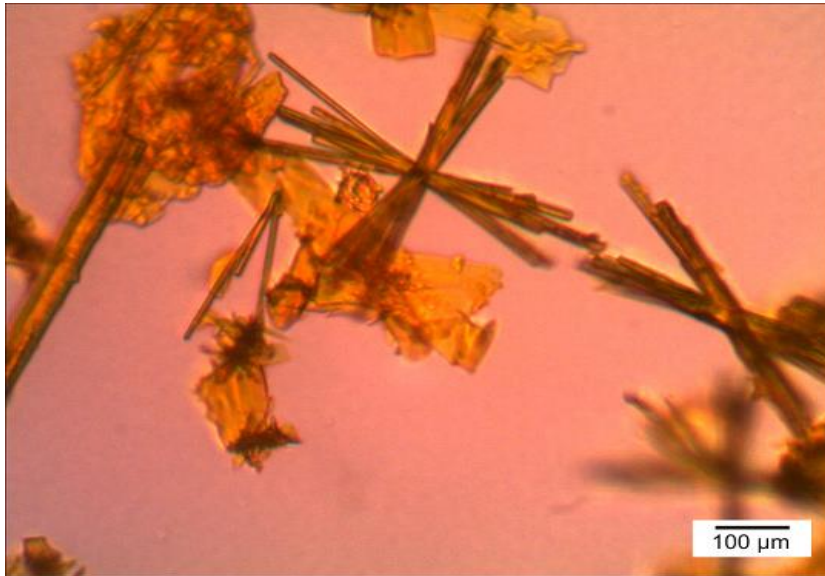
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Obtenção dos microcristais

Os microcristais de curcumina obtidos pela técnica de precipitação em não solvente foram analisados no microscópio óptico, sendo que as melhores imagens foram as obtidas com a objetiva de 40X. As imagens das diferentes preparações de microcristais de curcumina podem ser observadas nas Figuras 2, 3, 4 e 5.



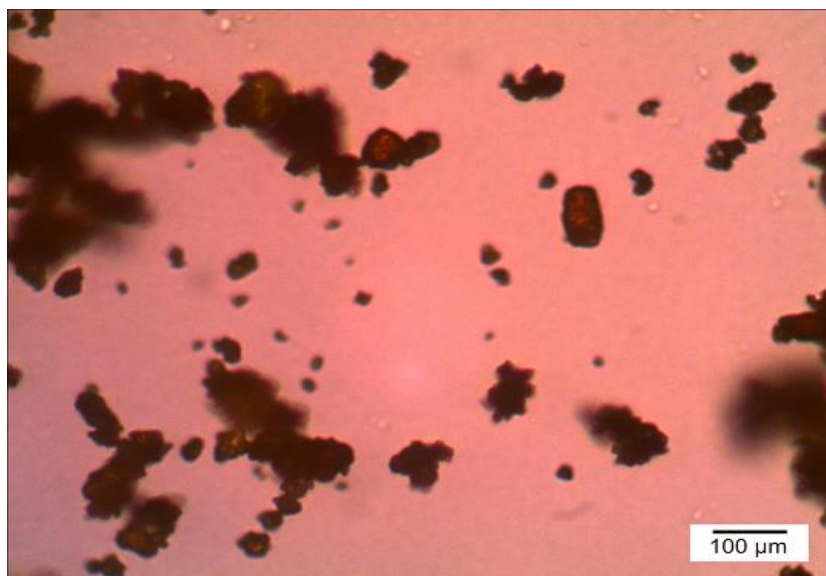
**Figura 2.** Microcristais de curcumina produzidos com estabilizante PVP, registrados em microscópio óptico com aumento de 400x.



**Figura 3.** Microcristais de curcumina produzidos com caseinato de cálcio, registrados em microscópio óptico com aumento de 400x.



**Figura 4.** Microcristais de curcumina produzidos sem estabilizante, registrados em microscópio óptico com aumento de 400x.

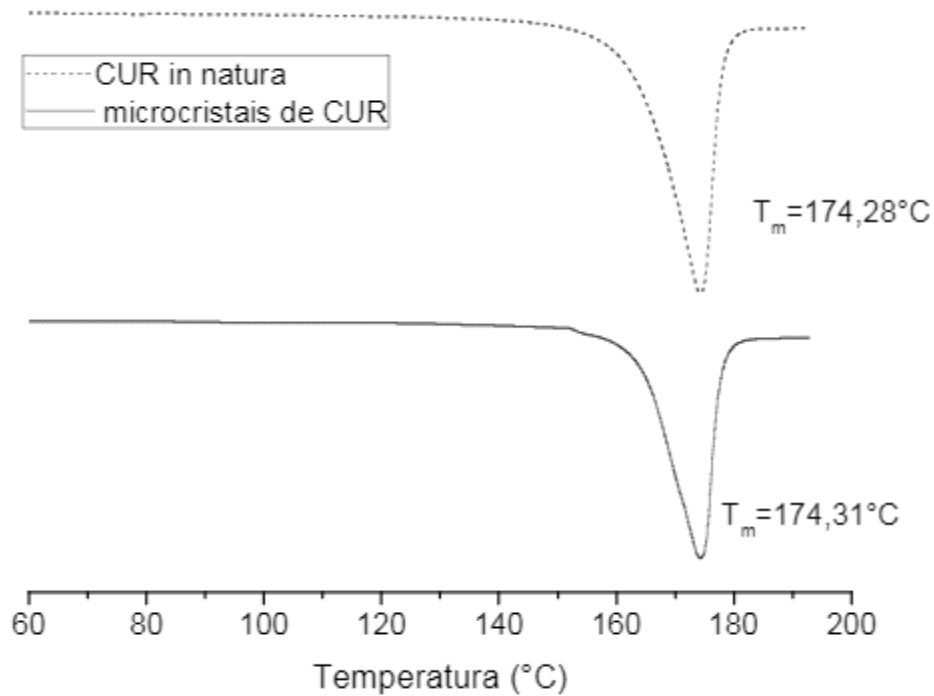


**Figura 5.** Curcumina em pó dispersa em água, registrada em microscópio óptico com aumento de 400x.

Em relação à preparação que continha o estabilizante PVP (Figura 2), não foi possível observar a presença de microcristais. Este resultado pode indicar que o PVP, na realidade, converteu a curcumina em cristais de tamanho muito reduzido (nanocristais) e não em microcristais, como relatado na literatura (YEN, 2010). Já a preparação que foi realizada com o estabilizante caseinato de cálcio (Figura 3), ou na ausência de estabilizante (Figura 4), produziram cristais com tamanho aproximado de 100 a 400  $\mu\text{m}$ . Adicionalmente, comparando a imagem da curcumina em pó dispersa em água, curcumina livre - (Figura 5) com as anteriores (Figuras 3 e 4), pode-se verificar que ela é formada por aglomerados, que apresentaram área superficial maior que os microcristais. Pode-se notar ainda que o tamanho dos microcristais produzidos na ausência de estabilizantes (Figura 4) foi um pouco menor que o tamanho dos microcristais produzidos com o estabilizante caseinato (Figuras 3). Este fato foi importante para a escolha da preparação que seria utilizada para os testes de atividade antimicrobiana. Além de produzir microcristais com tamanho menor, a preparação realizada na ausência de estabilizantes possui a vantagem da maior facilidade em sua produção e também de que suas características de dispersão foram tão boas quanto as dos microcristais feitos com estabilizante. Portanto, a formulação sem estabilizante foi a escolhida para a realização dos testes de atividade antimicrobiana.



A Figura 7 apresenta as curvas de temperatura obtidas a partir das análises feitas em DSC para a curcumina livre e para os microcristais de curcumina obtidos sem o uso de estabilizante.

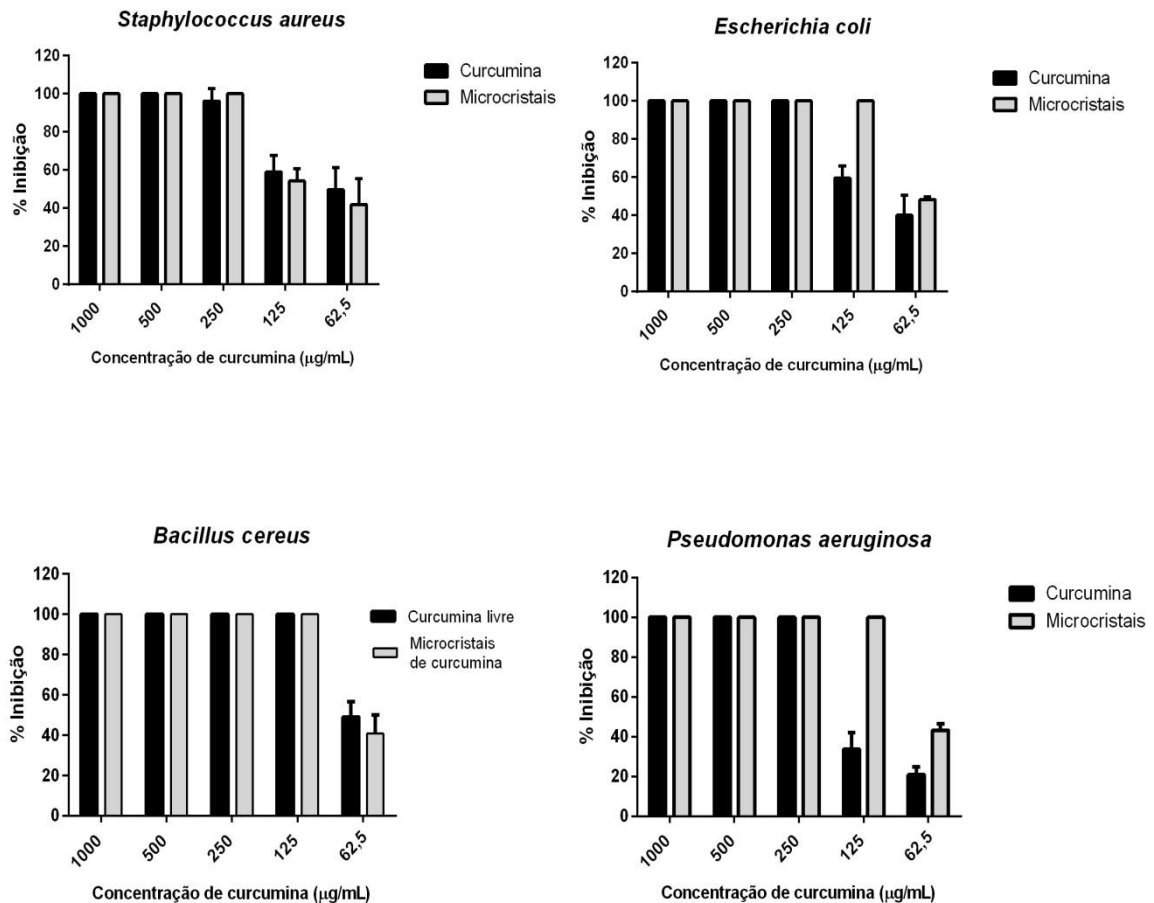


**Figura 6.** Curvas de temperatura obtidas para curcumina livre e microcristais de curcumina em DSC.

A Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) é uma técnica de análise térmica que mede e compara a quantidade de energia fornecida a uma amostra e a um material de referência. Permite visualizar características da amostra, como temperatura de transição de fase, reações de desidratação, cristalização, dentre outras (IONASHIRO, 2004). Como pode ser visto na figura acima, a temperatura de fusão da curcumina não foi alterada após a transformação desta em microcristais, demonstrando que não houve modificação da estrutura física da curcumina, mas apenas a redução do tamanho de suas partículas.

## 5.2. Avaliação da atividade antimicrobiana e porcentagem de inibição

A Figura 6 mostra o efeito inibitório da curcumina livre e dos microcristais de curcumina frente aos microrganismos *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *B. cereus*.



**Figura 7.** Porcentagens de inibição da curcumina livre e dos microcristais de curcumina frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Pela análise destes gráficos, pode-se constatar que tanto a curcumina livre quanto os microcristais de curcumina apresentaram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados. Observa-se, ainda, a diminuição da porcentagem de inibição do crescimento bacteriano à medida que as soluções se tornaram mais diluídas, o que demonstra um efeito dose-dependente.

A concentração inibitória mínima (CIM) é considerada a menor concentração de uma substância capaz de inibir totalmente o crescimento bacteriano. Para melhor

visualização, a CIM da curcumina livre e dos microcristais de curcumina estão mostrados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Concentração inibitória mínima da curcumina livre e dos microcristais de curcumina diante de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Microrganismo	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ) curcumina livre	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ) microcristais de curcumina
<i>Staphylococcus aureus</i>	500	250
<i>Escherichia coli</i>	250	125
<i>Bacillus cereus</i>	125	125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	250	125

Nota-se que a concentração inibitória mínima (CIM) dos microcristais foi menor, na maioria dos casos, que a da curcumina livre. A exceção foi o *Bacillus cereus*, para o qual ambas tiveram o mesmo valor de CIM.

Esta capacidade de inibir o desenvolvimento bacteriano pode ser explicada pelos prováveis mecanismos de ação da curcumina nos microrganismos. Segundo um deles, a curcumina seria capaz de inibir a montagem de filamentos protéicos importantes para a citocinese bacteriana. Rai et al. (2008) comprovaram que a curcumina interage diretamente com a proteína FTsZ de células de *Bacillus subtilis*. Esta proteína é homóloga à proteína tubulina encontrada em células eucarióticas, e é responsável pela formação do anel-Z no centro das células, importante para a divisão celular de bactérias. Ao interagir diretamente com esta proteína, a curcumina impede a reprodução e, conseqüentemente, a proliferação das células bacterianas.

Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com resultados encontrados por outros autores, em relação à atividade antimicrobiana da curcumina. De fato, as propriedades antimicrobianas de diferentes extratos de *Curcuma longa* já foram investigadas em relação a um grande número de microrganismos. Por exemplo, Niamsa e Sitiwet (2009) demonstraram que o extrato aquoso de *C. longa* é eficiente contra os microrganismos *S. epidermis* (ATCC 1228), *S. aureus* (ATCC 25923), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) e *E. coli* (ATCC 25923). Ainda, o extrato metanólico de *C. longa* também apresentou atividade antimicrobiana contra *B. subtilis* e *S. aureus* (UNGPHAIBOON et al., 2005). Em

relação à curcumina pura, estudos demonstraram que ela possui atividade inibitória contra cepas de *S. aureus* resistentes à metilciclina (MUN et al., 2013) e contra 65 cepas de *Helicobacter pylori* isoladas clinicamente (DE et al. 2009).

Além de comprovar o efeito antimicrobiano da curcumina, os resultados demonstram que a atividade antimicrobiana da curcumina pode ser melhorada com a diminuição do tamanho das partículas. Este fato foi comprovado pelo menor valor de CIM obtido para os microcristais de curcumina, em relação à curcumina livre, para três dos microrganismos testados (*E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*). Sem dúvida, a baixa biodisponibilidade é uma das principais limitações para o uso da curcumina. Neste trabalho, ficou demonstrado que melhorias em relação à dispersão da curcumina em água -o que foi conseguido com a diminuição do tamanho das partículas de curcumina- podem melhorar seus efeitos biológicos.

Tendo em vista que os microrganismos testados representam grupos importantes que atuam na contaminação e degradação de alimentos, poderíamos ainda prever uma aplicação promissora dos microcristais de curcumina na conservação de alimentos. Sabe-se que a presença de microrganismos indicadores pode demonstrar falta de higiene ou manipulação inadequada durante alguma fase do processamento do alimento, afetando diretamente sua qualidade microbiológica. A *E. coli* é uma bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, mesófila, classificada no grupo de coliformes totais e sua presença indica contaminação fecal (SILVA, 2002). Já o microrganismo *S. aureus* é gram-positivo, mesófilo, geralmente encontrado nas fossas nasais e na pele das pessoas, e está relacionada a diversas infecções em seres humanos (SANTOS, 2007). *B. cereus* é gram-positivo, produtor de esporos, consegue resistir e até se desenvolver em temperaturas de refrigeração e está comumente associado a doenças alimentares (SOARES, 2008). *P. aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa, aeróbia restrita, que apresenta patogenicidade em presença de células hospedeiras (FERREIRA, 2005). Ou seja, a aplicação dos microcristais de curcumina poderia atuar no controle da proliferação destes microrganismos em alimentos, ajudando no controle das toxinfecções de origem alimentar, além de preservar os alimentos contra deterioração.

## 6. CONCLUSÕES

Por meio da técnica de precipitação em não solvente modificada foram obtidos microcristais de curcumina que apresentaram tamanho reduzido e maior área superficial em relação à curcumina in natura. Das três formulações testadas (curcumina + PVP; curcumina + caseinato de cálcio e curcumina sem a adição de estabilizante), a formulação que apresentou as melhores características ao ser analisada no microscópio óptico foi a de curcumina sem a adição de estabilizante, sendo que esta formulação foi utilizada nos testes de atividade antimicrobiana. A conversão em microcristais potencializou o efeito antimicrobiano da curcumina, como foi evidenciado neste trabalho. Para *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* foi possível reduzir pela metade a Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o uso dos microcristais.

A análise por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) apontou a mesma temperatura de fusão, aproximadamente 174°C, para a curcumina e seus microcristais, demonstrando que o estado físico da substância permaneceu intacto, independentemente da redução no tamanho das partículas.

Os resultados permitem concluir que a produção de microcristais a partir da curcumina em pó viabilizam sua aplicação, por se tratar de uma técnica de fácil execução e que apresenta efeitos satisfatórios no controle ou eliminação de microrganismos com tamanha importância no setor alimentício.

## 7. REFERÊNCIAS

ALBANUS, C. B. **Esterificação da amilopectina e obtenção de nanopartículas por precipitação em misturas binárias**. 2011. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Química Industrial, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/37337/000821369.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

ALMEIDA, L. P. **Caracterização de pigmentos da Curcuma longa L., avaliação da atividade antimicrobiana, morfogênese in vitro na produção de curcuminóides e óleos essenciais**. 2006. 120 f. Tese (de Doutorado em Ciência de Alimentos) –, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, 2006. Disponível em: <[http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/MBSA-6X4M39/tese\\_lucia.pdf?sequence=1](http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/MBSA-6X4M39/tese_lucia.pdf?sequence=1)>. Acesso em: 10 jul. 2015.

ANAND, P.; KUNNUMAKKARA, A. B.; NEWMAN, R. A.; AGGARWAL, B. B et al. Bioavailability of Curcumin: problems and promises. **Molecular Pharmaceutics**, Houston, v. 4, n. 6, p. 807-818, Cytokine Research Laboratory and Pharmaceutical Development Center, Department of Experimental Therapeutics, The University of Texas M. D. Anderson Cancer Center. Houston – Texas, 2007. Disponível em: <<http://cancer.cytoluminator.com/cancer-photodynamic-therapy/bioavailability%20of%20curcumin%20problems.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

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**, v. 59, n. 5, p. 2056–61, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21322563>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

DE ,R.; KUNDU, P.; SWARNAKAR, S; RAMAMURTHY, T.; CHOWDHURY,A.; NAIR, G. B.;MUKHOPADHYAY,A. K. Antimicrobial Activity of Curcumin against

*Helicobacter pylori* Isolates from India and during Infections in Mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 4, p. 1592-1597, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2663130/>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

DUBEY, S. K.; SHARMA, A. K.; NARAIN, U.; MISRA, K.; PATI, U. Design, synthesis and characterization of some bioactive conjugates of curcumin with glycine, glutamic acid, valine and demethylenated piperic acid and study of their antimicrobial and antiproliferative properties. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 1837–46, set. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18201805>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

FERREIRA, L. L. **Estrutura clonal e multirresistência em *Pseudomonas aeruginosa***. 2005. 114 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária). Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2005. Disponível em: <<http://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/8542/2/147.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

FILHO, A. B. C.; BRAZ, L. T.; SOUZA, R. J.; TAVARES, M. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 30, n. 1, p. 171-175, Jaboticabal – SP, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v30n1/a28v30n1>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

GOVINDARAJ, P.; KANDASUBRAMANIAN, B.; KODAM, K. M. Molecular interactions and antimicrobial activity of curcumin (*Curcuma longa*) loaded polyacrylonitrile films. **Materials Chemistry and Physics**, v. 147, n. 3, p. 934–941, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254058414003915>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

HAN, S.; YANG, Y. Antimicrobial activity of wool fabric treated with curcumin. **Dyes and Pigments**, v. 64, n. 2, p. 157–161, fev. 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014372080400107X>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

HATAMIE, S.; NOURI, M.; KARANDIKAR, S. K.; KULKARNI, A.; DHOLE, S. D.; PHASE, D. M.; KALE, S. N. Complexes of cobalt nanoparticles and polyfunctional curcumin as antimicrobial agents. **Materials Science and Engineering: C**, v. 32, n. 2, p. 92–97, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493111002748>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

HECQ, J.; DELEERS, M.; FANARA, D.; VRANCKX, H.; AMIGHI, K. Preparation and characterization of nanocrystals for solubility and dissolution rate enhancement of nifedipine. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 299, p. 167-177, 2005. Disponível em: <[http://www.researchgate.net/profile/Michel\\_Deleers/publication/7747159\\_Preparation\\_and\\_characterization\\_of\\_nanocrystals\\_for\\_solubility\\_and\\_dissolution\\_rate\\_enhancement\\_of\\_nifedipine/links/09e4150cb1084dcc31000000.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Michel_Deleers/publication/7747159_Preparation_and_characterization_of_nanocrystals_for_solubility_and_dissolution_rate_enhancement_of_nifedipine/links/09e4150cb1084dcc31000000.pdf)>. Acesso em: 10 jul. 2015.

HU, K.; HUANG, X.; GAO, Y.; HUANG, X.; XIAO, H.; McCLEMENTS, D. J. et al. Core–shell biopolymer nanoparticle delivery systems: Synthesis and characterization of curcumin fortified zein–pectin nanoparticles. **Food Chemistry**, vol.182, p. 275-281, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461500360X>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

HU, P.; HUANG, P.; CHEN, M. W. Curcumin reduces *Streptococcus mutans* biofilm formation by inhibiting sortase A activity. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 10, p. 1343–8, out. 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996913001714>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

IONASHIRO, M. **Fundamentos da termogravimetria e, análise térmica diferencial/ e calorimetria exploratória diferencial**. Araraquara, 2004São Paulo: Giz, 2005. Disponível em: <<http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/ESPEC/livro%20-analise-termica-themal-analysis-Giolito.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2015.



LAL, J.; GUPTA, S. K.; THAVASELGAM, D.; AGARWAL, D. D. Biological activity, design, synthesis and structure activity relationship of some novel derivatives of curcumin containing sulfonamides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 64, p. 579–88, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523413001608>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

LIU, Y.; LIU D.; ZHU, L.; GAN, Q.; LE, X et al. Temperature-dependent structure stability and in vitro release of chitosan-coated curcumin liposome. **Food Research International**, vol. 74, p. 97-105, 2015. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996915001878>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

MOGHADAMTOUSI, S. Z.; KADIR, H. A.; HASSANDARVISH, P.; TAJIK, H.; ABUBAKAR, S.; ZANDI, K et al. A review on antibacterial, antiviral and antifungal activity of curcumin. **BioMed Research International**, vol. 2014, article ID 186864. Malaysia, 2014. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/186864/>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

MUN, S. H.; JOUNG, D. K.; KIM, Y. S.; KANG, O. H.; KIM, S. B.; SEO, Y. S.; KIM, Y. C.; LEE, D. S.; SHIN, D. W.; KWEON, K. T.; KWON, D. Y. Synergistic antibacterial effect of curcumin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Phytomedicine**, v. 20, p. 714–718, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23537748>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

MUN, S.H.; JOUNG, D.K.; KIM, Y.S.; KANG, O.H.; KIM, S.B.; SEO, Y.S.; KIM, Y.C.; LEE, D.S.; SHIN, D.W.; KWEON, K.T.; KWON, D.Y. Synergistic antibacterial effect of curcumin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Phytomedicine**, v. 20, n.8-9, p.714-718, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23537748>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

NCCLS. **Metodologia dos testes de susceptibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico**: Norma

Aprovada – sexta edição. Norma M7-A6, v. 23, n. 2, 2003. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicos/audes/manuais/clsi/clsi\\_OPASM7\\_A6.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/audes/manuais/clsi/clsi_OPASM7_A6.pdf)>. Acesso em: 10 jul. 2015.

NEGI, P. S.; JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. M., SAKARIAH, K. K. Antibacterial Activity of Turmeric Oil: A Byproduct from Curcumin Manufacture. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.47, p. 4297–4300, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10552805>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

NGUYEN, A. T.; WINCKLER, P.; LOISON, P.; WACHE, Y.; CHAMBIN, O et al. Physico-chemical state influences in vitro release profile of curcumin from pectin beads. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, vol. 121, p. 290-298, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776514002586>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

NIAMSA, N.; SITTIWET, C. Antimicrobial activity of *Curcuma longa* aqueous extract. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.4, n.4, p.173-177, 2009. Disponível em: <<http://scialert.net/abstract/?doi=jpt.2009.173.177>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

PARVATHY, K. S.; NEGI, P. S.; SRINIVAS, P. Antioxidant, antimutagenic and antibacterial activities of curcumin- $\beta$ -diglucoside. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 265-271, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608014611>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

RAI, D.; SINGH, J. K.; ROY, N.; PANDA, D. Curcumin inhibits FTsZ assembly: an attractive mechanism for its antibacterial activity. **Biochemical Journal**, v. 410, p. 147-155, 2008. Disponível em: <<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=20074581>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, vol. 43, n. 6, p. 413-423. Rio de Janeiro, 2007.

Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v43n6/v43n6a05.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

SHAIKH, J.; ANKOLA, D. D.; BENIWAL, V.; SINGH, D.; RAVI KUMAR, M. N. V. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 37, issues 3-4, p. 223-230, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098709000621>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

SHARMA, P.; DENNY, W. A.; GARG, S. Effect of wet milling process on the solid state of indomethacin and simvastatin. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 380, issues 1-2, p. 40-48, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517309004232?np=y>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do Sistema Simplate**. 2002. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Tese de Mestrado, - Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, 2002. Disponível em: <[www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-29102002.../maria.pdf](http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-29102002.../maria.pdf)>. Acesso em: 10 jul. 2015.

SOARES, C. M.; VALADARES, C. F.; AZEREDO, R. M. C.; KUAYE, A. Y et al. Contaminação ambiental e perfil toxigênico de *Bacillus cereus* isolados em serviços de alimentação. **Ciência Rural**, Santa Maria, vol. 38, n. 2, p. 504-510, . Campinas, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n2/a33v38n2.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

UNGPHAIBOON, S.; SUPAVITA, T.; SINGCHANGCHAI, P.; SUNGKARAK, S.; RATTANASUWAN, P.; ITHARAT, A. Study on antioxidant and antimicrobial activities of turmeric clear liquid soap for wound treatment of HIV patients. **Songklanakarin**

**Journal of Science and Technology**, v. 27, n.2, p. 569-578, 2005. Disponível em: <[http://www.researchgate.net/publication/26470680\\_Study\\_on\\_antioxidant\\_and\\_anti\\_microbial\\_activities\\_of\\_turmeric\\_clear\\_liquid\\_soap\\_for\\_wound\\_treatment\\_of\\_HIV\\_patients](http://www.researchgate.net/publication/26470680_Study_on_antioxidant_and_anti_microbial_activities_of_turmeric_clear_liquid_soap_for_wound_treatment_of_HIV_patients)>. Acesso em: 10 jul. 2015.

WANG, Y.; LU, Z.; WU, H.; LV, F. Study on the antibiotic activity of microcapsule curcumin against foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, n. 1, p. 71–4, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19775769>>. Acesso em: 10 jul. 2015.

YEN, F. L.; WU, T. H.; TZENG, C. W.; LIN, L. T.; LIN, C. C. Curcumin nanoparticles improve the physicochemical properties of curcumin and effectively enhance its antioxidant and antihepatoma activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Taiwan, vol. 58, n. 12, p. 7376-7382, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20486686>>. Acesso em: 10 jul. 2015.