



## INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DE PATÓGENOS DE ORIGEM ALIMENTAR MEDIADA POR CURCUMINA

Izadora Volpato Rossi (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Jane Martha Graton Mikcha (Orientador), e-mail: jmgmikcha@uem.br.  
Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

### Ciências Agrárias, Microbiologia de Alimentos

**Palavras-chave:** fotoinativação, curcumina, LED.

#### Resumo:

O presente estudo avaliou a eficácia da inativação fotodinâmica em bactérias patogênicas de origem alimentar usando curcumina e um diodo emissor de luz azul (LED). A avaliação de citotoxicidade da curcumina em células VERO embasou a escolha da concentração deste fotossensibilizador a ser aplicado nos ensaios de fotoinativação. A curcumina a 75  $\mu\text{M}$  foi utilizada para foto-irradiação de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium ATCC 14028, em doses de luz de 139  $\text{J}/\text{cm}^2$  (10 minutos de iluminação) e 278  $\text{J}/\text{cm}^2$  (20 minutos de iluminação). A inativação fotodinâmica de *S. aureus* mediada por curcumina induziu a uma redução de 3,27 log UFC/ml a 139  $\text{J}/\text{cm}^2$  e 3,57 log UFC/ml a 278  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Para *S. Typhimurium* as reduções foram de aproximadamente 1,26 e 1,81 log UFC/ml ( $p > 0,05$ ), durante 10 e 20 minutos de exposição à luz de LED azul, respectivamente.

#### Introdução

A segurança de alimentos é uma preocupação mundial tanto para a indústria de alimentos quanto para a saúde pública. A aplicação de tecnologias que reduzam ou eliminem a contaminação microbiana em alimentos pode reduzir significativamente a incidência de doenças transmitidas por alimentos, porém a maioria dos métodos tradicionais pode induzir alterações nos alimentos, ter alto custo ou resultar em resistência microbiana (ALVES et al., 2015). A inativação fotodinâmica é uma nova e promissora estratégia para erradicar microrganismos, tais como bactérias, fungos, vírus e parasitas, que se baseia na utilização de fotossensibilizadores ativados por uma luz de





comprimento de onda apropriado (LUKSIENE; BROVKO, 2013) A curcumina é um pigmento amarelo isolado a partir de *Curcuma longa* que tem sido utilizado como uma especiaria desde os tempos antigos e apresenta diversas atividades biológicas (JIANG et al., 2014). Objetivou-se, com esse trabalho, avaliar a eficiência da inativação fotodinâmica utilizando curcumina como fotossensibilizador em dois patógenos de origem alimentar: *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium.

## Materiais e métodos

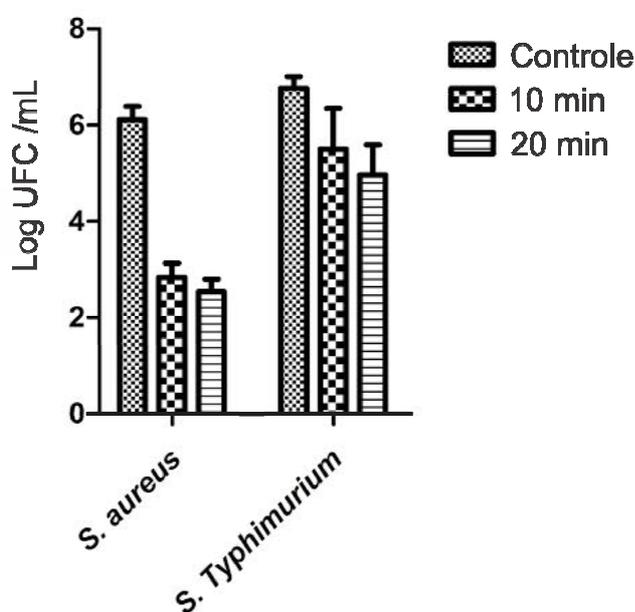
A citotoxicidade da curcumina foi avaliada utilizando células VERO e forneceu embasamento para a determinação da concentração a ser aplicada nos ensaios de inativação fotodinâmica, que foi 75  $\mu\text{M}$ . A fonte de luz utilizada foi LED azul ( $\lambda_{\text{máx}} = 470\text{nm}$ ) e as doses de luz foram calculadas para os tempos de 10 e 20 minutos de iluminação. As suspensões bacterianas padronizadas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e de *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 foram feitas em solução salina 0,85% estéril, utilizando a escala de McFarland 0,5 e diluídas a aproximadamente  $10^7$  CFU/ml. Alíquotas de 50  $\mu\text{l}$  de suspensão bacteriana padronizada foram incubadas com 950  $\mu\text{l}$  de solução de curcumina a 75  $\mu\text{M}$  e mantidas no escuro durante 10 minutos. Após incubação, 500  $\mu\text{l}$  de amostra foram iluminados com LED azul. Dois tempos de exposição à luz, 10 e 20 minutos, foram avaliados, e o controle foi avaliado sem exposição à luz. Em seguida, diluições em série das amostras tratadas e do controle foram inoculadas em placas de ágar tripticase de soja (TSA – Difco) e incubadas a 37°C/24h. A contagem das colônias foi realizada e os resultados de viabilidade celular foram expressos como log CFU/ml.

## Resultados e Discussão





A citotoxicidade da curcumina avaliada em células VERO apresentou valor de CC50 de  $77\mu\text{M}$  ( $28,47 \pm 3,29 \mu\text{g/mL}$ ) e baseando-se neste resultado a concentração utilizada nos ensaios de inativação fotodinâmica foi de  $75\mu\text{M}$ . As doses de luz obtidas foram  $139 \text{ J/cm}^2$  para 10 minutos de iluminação e  $278 \text{ J/cm}^2$  para 20 minutos. Curcumina a  $75 \mu\text{M}$  na ausência de ativação de luz não reduziu as contagens bacterianas e a exposição da bactéria à luz LED azul não teve nenhum efeito sobre a sua viabilidade. A inativação fotodinâmica mediada por curcumina em *S. aureus* revelou uma redução de aproximadamente 3,27 log UFC/ml em 10 minutos de exposição a luz ( $139 \text{ J/cm}^2$ ) e de aproximadamente 3,57 log UFC/ml após 20 minutos ( $278 \text{ J/cm}^2$ ) ( $p < 0,05$ ), enquanto para *S. Typhimurium* as reduções foram de aproximadamente 1,26 e 1,81 log UFC/ml ( $p > 0,05$ ), durante 10 e 20 minutos de exposição à luz de LED azul, respectivamente, quando comparados ao grupo controle (Figura 1). As bactérias Gram negativas são significativamente mais resistentes à PDI do que as Gram positivas, uma vez que se diferem na composição química e estrutural da parede celular.



**Figura 1** – Inativação fotodinâmica de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Typhimurium* por curcumina a  $75\mu\text{M}$  e irradiação com luz LED azul, por períodos de 10 ( $139\text{J/cm}^2$ ) e 20 minutos ( $278\text{J/cm}^2$ ).





## Conclusões

A inativação fotodinâmica mediada por curcumina a 75  $\mu\text{M}$  foi eficaz na redução das contagens bacterianas de *S. aureus*, porém, sem resultados significativos na inativação de *S. Typhimurium*. A tecnologia de inativação fotodinâmica poderia servir como uma abordagem nova e promissora para controle de algumas bactérias patogênicas de importância alimentar.

## Agradecimentos

Ao corpo docente desta universidade, que fomenta o pensamento crítico e a formação de humanos à serviço da sociedade.

À professora orientadora Jane Martha Graton Mikcha, pelas oportunidades concedidas e confiança.

Aos companheiros de laboratório, pelo compartilhamento de experiências e amizade desenvolvida.

Aos meus pais, por me conduzirem a valorização do conhecimento e da ciência.

À CAPES/CNPq pela concessão da bolsa e apoio financeiro.

## Referências

ALVES, E. et al. Potential applications of porphyrins in photodynamic inactivation beyond the medical scope. **Journal Of Photochemistry And Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 22, p.34-57, mar. 2015.

LUKSIENE, Z.; BROVKO, L. Antibacterial Photosensitization-Based Treatment for Food Safety. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 4, p.185-199, 17 ago. 2013.

JIANG, Y. et al. Photodynamic Action of LED-Activated Curcumin against *Staphylococcus aureus* Involving Intracellular ROS Increase and Membrane Damage. **International Journal of Photoenergy**, v. 2014, abr. 2014.

