

## CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA E BACTERICIDA MÍNIMAS DOS ÁCIDOS ASCÓRBICO E LÁTICO

CARINA C. G. TOMALOK<sup>1\*</sup>, KALINKA K. MAYESKI<sup>1</sup>, LUCAS H. DO NASCIMENTO<sup>1</sup>,  
MARCIELI PERUZZOLO<sup>1</sup>, GECIANE TONIAZZO BACKES<sup>1</sup>, ROGÉRIO LUIS CANSIAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, URI Erechim Programa de Pós  
Graduação em Engenharia de Alimentos

\*e-mail: carinatomalok@yahoo.com

**RESUMO** – O presente estudo realizou a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) *in vitro* dos ácidos ascórbico e lático. O método indireto de crescimento bacteriano através da densidade óptica em meio de cultura líquido com a utilização de microplacas de fundo plano foi a forma utilizada para se obter os percentuais necessários para causar a inibição e a morte dos microrganismos *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. O ácido lático apresentou melhores resultados tanto para a CIM quanto para a CBM, entre 0,188 a 0,375% e entre 0,375 a 0,500%, respectivamente. A mistura de ácido lático e ascórbico (9:1) manteve a boa atividade antimicrobiana do ácido lático. Dessa forma, pode-se concluir que esse ácido orgânico é uma alternativa rentável para controle microbiológico.

### INTRODUÇÃO

Durante todo o processamento de abate de suínos, a contaminação das carcaças com patógenos de origem alimentar, deve ser prevenida e/ou reduzida com ações primárias de boas práticas de higiene aliadas a operações técnicas de escaldagem, depilação mecânica, chamuscagem e polimento.

Porém é extremamente difícil eliminar totalmente os microrganismos presentes principalmente na superfície das carcaças suínas, então as tecnologias de intervenção antimicrobianas estão ganhando espaço com o interesse de inibir ou retardar o crescimento microbiano.

Visto que a segurança dos produtos cárneos é uma preocupação atual da sociedade e continuará no futuro, o emprego de aditivos alimentares, a qualidade de produtos orgânicos e naturais e o desenvolvimento de metodologias mais eficientes de controle microbiano são alguns exemplos (Loretz et al., 2011; Sofos, 2008).

O uso de ácidos orgânicos, substâncias a base de cloro ou fosfato compreendem os métodos químicos de descontaminação e podem ser utilizados por imersão ou pulverização (Li et al., 2023; Loretz et al., 2011)

O ácido ascórbico é bastante usado em alimentos devido a suas funções como agente redutor e antioxidante, e há estudos de aspersão em carcaças animais com o objetivo de aumentar a vida útil de prateleira, por seu efeito bactericida (Maria & Drehmer, 2005).

O ácido lático atua como agente antimicrobiano, controlando bactérias deteriorantes e patogênicas, e adicionalmente não afeta as características sensoriais dos produtos em que é utilizado (Mani-López et al., 2012).

Assim, o objetivo desse estudo foi verificar a Concentração Inibitória Mínima – CIM e a Concentração Bactericida Mínima – CBM *in vitro* dos ácidos orgânicos ascórbico e lático, sendo o ponto de partida para o posterior

uso desses ácidos em produtos cárneos suínos como métodos de controle antimicrobiano.

## MATERIAL E MÉTODOS

A determinação da CIM e CBM para quatro microrganismos, dois Gram-positivos e dois Gram-negativos foi realizada conforme descrito a seguir.

### Preparo do Inóculo

Foram utilizadas as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (25923) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644). O inóculo foi preparado pela transferência da cultura estoque em um tubo de ensaio com 10 mL de meio líquido Luria Bertani LB (triptona 10,0 g L<sup>-1</sup>, extrato de levedura 5,0 g L<sup>-1</sup>, NaCl 5,0 g L<sup>-1</sup>) sob condições assépticas, sendo incubados a 36°C ±1°C por 24 h em estufa bacteriológica (J.Prolab, JP 101) (Cansian et al., 2010).

### Determinação da CIM e CBM

Para os testes de concentração inibitória mínima foi utilizado o método indireto de crescimento bacteriano através da densidade óptica em meio de cultura líquido. Após o crescimento prévio das bactérias, *E. coli*, *S. Typhimurium*, *S. aureus* e *L. monocytogenes*, em meio Luria Bertani (LB) durante 24 h a 36 ± 1 °C, foram inoculados 10 µL das culturas bacterianas (separadamente) em microplacas de fundo plano, para cada concentração dos ácidos orgânicos (ácido láctico e ácido

ascórbico isoladamente e também em combinação, para posterior aplicação como antimicrobiano e antioxidante). Submeteu-se à leitura da absorbância no tempo zero e após 24 horas de incubação, através de leitor automático de microplacas ELISA (Bio Tek Instruments, EL 800), acoplado em computador com programa KcJunior, com comprimento de onda de 490 nm.

A densidade óptica foi determinada pela diferença entre as leituras (0 e 24 h), sendo que a CIM foi definida como a menor concentração de amostra capaz de inibir o crescimento microbiano.

Já, para os testes da concentração bactericida mínima, procedeu-se em outras microplacas o depósito de 150 µL de meio de cultura líquido e então 10 µL de cada amostra da CIM foram inoculados, sendo realizada uma leitura logo após a inoculação (hora zero) e outra após 24 horas de incubação a 36 ± 1°C. A CBM foi determinada como a concentração mínima onde não houve crescimentos dos microrganismos (Gaio et al., 2015).

Como controle de ambos os testes foram utilizados em poços separadamente somente meio de cultura puro, meio de cultura somente com ácidos, meio de cultura somente com bactérias. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com a avaliação da Concentração Inibitória Mínima estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (%) dos ácidos orgânicos avaliados.

Ácido orgânico	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Ascórbico	0,750	1,000	0,375	0,750
Lático	0,375	0,375	0,188	0,375
Combinação (90% Lático e 10% Ascórbico)	0,375	0,375	0,188	0,500

Conforme observa-se na Tabela 1, o ácido láctico apresenta menores percentuais de concentrações necessárias para inibir o crescimento dos microrganismos testados

(0,188 a 0,375%), sendo que quanto menor o valor da concentração maior é a atividade de inibição, já que atua inibindo o crescimento dos microrganismos com o uso de concentrações baixas.

Já o ácido ascórbico necessitou de concentrações superiores ao ácido láctico (0,375 a 1,0%) para inibir o crescimento dos microrganismos testados.

A ação bactericida do ácido láctico foi mantida ao se avaliar uma combinação de 9 partes de ácido láctico para 1 parte de ácido ascórbico para a maioria dos microrganismos testados, apenas para *L. monocytogenes* houve um aumento na concentração necessária para inibição do crescimento, aumentando de 0,375% com o uso do ácido láctico individualmente para 0,50% com a combinação testada.

Comparando os dois ácidos testados quanto a inibição do crescimento de microrganismos selecionados nesse estudo, pode-se concluir que o ácido láctico seria a melhor opção para uso em alimentos atuando no controle microbiológico eficientemente com a utilização de concentrações baixas, o que não causaria um impacto de alto custo no processamento industrial.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos com os ensaios da avaliação da Concentração Bactericida Mínima.

Tabela 2: Concentração bactericida mínima (%) dos ácidos orgânicos avaliados.

Ácido orgânico	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Ascórbico	4,000	4,000	4,000	<4,000
Lático	0,500	0,500	0,375	0,500
Combinação (90% Lático e 10% Ascórbico)	0,750	1,000	0,375	0,750

Pode-se observar que o ácido láctico demonstra uma performance melhor, pois com concentrações entre 0,375 e 0,50% ocasiona a morte dos microrganismos testados. O que não ocorre na avaliação do ácido ascórbico em que necessitou de concentração mais alta de 4,0% ou maior no caso de *L. monocytogenes* para que a morte dos microrganismos seja efetuada nos testes *in vitro*.

Da mesma forma que para a avaliação da CIM, foi realizado a avaliação para a CBM de uma combinação dos dois ácidos orgânicos estudados nesse trabalho de 9 partes de ácido láctico para 1 parte de ácido ascórbico e pode-se observar que houve um leve aumento nas concentrações necessárias para ocasionar a morte dos microrganismos testados para 0,750 e 1,0% em três microrganismos e manteve-se em 0,375% *S. aureus*, tanto no uso do ácido láctico individualmente quanto na combinação dos dois ácidos.

Através desses estudos da avaliação da CIM e CBM dos ácidos ascórbico e láctico, pode-se concluir que ambos podem ser usados no controle microbiano, porém o ácido láctico possui a vantagem de necessitar de concentrações mais baixas para atingir a

inibição ou morte dos microrganismos testados em comparação ao ácido ascórbico, sendo então uma alternativa de melhor custo/benefício.

O ácido láctico a 3% em spray de baixo volume, bem como outros tratamentos, foi testado em um estudo para validação de tecnologias de intervenção antimicrobiana comercial para controlar *Salmonella* sp. em carcaças de suínos com pele e cortes de carne suína resfriada no atacado, e obteve-se reduções de 2,0 a 2,4 log UFC/cm<sup>2</sup>, menores do que os outros tratamentos comparados no respectivo estudo (2,8 a 3,1 log UFC / cm<sup>2</sup>), mas maiores que a lavagem com água a temperatura ambiente de alto volume (1,5 log UFC/cm<sup>2</sup>) (Bonilla et al., 2023), demonstrando que esse produto possui um bom potencial para uso industrial.

Outro estudo avaliou a vida de prateleira da carne suína ao ser tratada com uma solução de ácidos orgânicos (1% de ácido láctico, 0,80% de ácido ascórbico, 1% de ácido cítrico e 1% de ácido acético) evidenciou um expressivo controle microbiológico com a redução de 3 ciclos log em relação às amostras controle (Maria & Drehmer, 2005).

Conclui-se que os ácidos orgânicos podem ser alternativas viáveis para uso em produtos alimentícios, como a carne suína, contribuindo para um aumento na vida de prateleira através da inibição ou morte dos principais microrganismos presentes nesse tipo de alimento.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pela concessão da bolsa, ao CNPq e FAPERGS pelo apoio financeiro.

### REFERÊNCIAS

- Bonilla, K. P., Vega, D., Maher, J., Najar-Villareal, F., Kang, Q., Trinetta, V., O'Quinn, T. G., Phebus, R. K., & Gragg, S. E. (2023). Validation of commercial antimicrobial intervention technologies to control Salmonella on skin-on market hog carcasses and chilled pork wholesale cuts. *Food Control*, *151*, 109829. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109829>
- Cansian, R. L., Mossi, A. J., Oliveira, D. de, Toniazzo, G., Treichel, H., Paroul, N., Astolfi, V., & Serafini, L. A. (2010). Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (Cinnamomum camphora Ness e Eberm Var. Linaloolifera fujita). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, *30*(2), 378–384. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000200014>
- Gaio, I., Saggiorato, A. G., Treichel, H., Cichoski, A. J., Astolfi, V., Cardoso, R. I., Toniazzo, G., Valduga, E., Paroul, N., & Cansian, R. L. (2015). Antibacterial activity of basil essential oil (Ocimum basilicum L.) in Italian-type sausage. *Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit*, *10*(4), 323–329. <https://doi.org/10.1007/s00003-015-0936-x>
- Li, S., Konoval, H. M., Marecek, S., Lathrop, A. A., Feng, S., & Pokharel, S. (2023). Control of Escherichia coli O157:H7 using lytic bacteriophage and lactic acid on marinated and tenderized raw pork loins. *Meat Science*, *196*, 109030. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.109030>
- Loretz, M., Stephan, R., & Zweifel, C. (2011). Antibacterial activity of decontamination treatments for pig carcasses. *Food Control*, *22*(8), 1121–1125. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.013>
- Mani-López, E., García, H. S., & López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research International*, *45*(2), 713–721. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.043>
- Maria, A., & Drehmer, F. (2005). *Quebra De Peso Das Carcaças E Estudo Da Vida De Prateleira da Carne Suína*. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Maria -UFSM.
- Sofos, J. N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Science*, *78*(1–2), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.027>